

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**Avaliação do Impacto do Extrato Aquoso de Amora-Preta na Modulação
Oxidativa e Hormonal em Ratos com Hipotireoidismo**

Thaís Silva de Almeida

Pelotas, 2025

Thaís Silva de Almeida

**Avaliação do Impacto do Extrato Aquoso de Amora-Preta na Modulação
Oxidativa e Hormonal em Ratos com Hipotireoidismo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientador: Profa. Dra. Jucimara Baldissarelli

Pelotas, 2025

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

A445 Almeida, Thaís Silva de

Avaliação do Impacto do Extrato Aquoso de Amora-Preta na Modulação Oxidativa e Hormonal em Ratos com Hipotireoidismo [recurso eletrônico] / Thaís Silva de Almeida ; Jucimara Baldissarelli, orientadora. — Pelotas, 2025.
67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2025.

1. Disfunção endócrina. 2. Suplementação Nutricional. 3. Tireoide. 4. Fitoquímicos. 5. Metimazol. I. Baldissarelli, Jucimara, orient. II. Título.

CDD 616.444

Thaís Silva de Almeida

**Avaliação do Impacto do Extrato Aquoso de Amora-Preta na Modulação
Oxidativa e Hormonal em Ratos com Hipotireoidismo**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 08/04/2025

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 JUCIMARA BALDISSARELLI
Data: 08/05/2025 14:33:10-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Jucimara Baldissarelli (Orientadora)
Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria

Documento assinado digitalmente
 CRISTINA JANSENALVES
Data: 07/05/2025 22:24:15-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Dra. Cristina Jansen
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Documento assinado digitalmente
 JULIA EISENHARDT DE MELLO
Data: 07/05/2025 19:38:54-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Julia Eisenhardt de Mello
Doutora em Ciências - Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha sincera gratidão ao meu pai, Clóvis, que sempre se dedicou incansavelmente para tornar todos os meus sonhos possíveis, estando ao meu lado com firmeza em cada etapa da minha vida.

Agradeço às minhas companheiras de longa data, Ariadne e Juliana, que estão comigo desde a graduação, pelo apoio incondicional e incentivo durante meu mestrado, uma jornada cheia de desafios.

Sou profundamente grata à minha orientadora, Jucimara, pelo apoio contínuo desde que me tornei sua aluna, sempre disposta a trabalhar arduamente para tornar esta pesquisa uma realidade.

Meus agradecimentos especiais vão para Catarine, por colocar pessoas incríveis no meu caminho e tornar essa jornada mais leve e acolhedora.

Por fim, gostaria de agradecer a todo o laboratório Innovaschem pelo apoio e contribuição essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

DE ALMEIDA, Thaís Silva. **Avaliação do Impacto do Extrato Aquoso de Amora-Preta na Modulação Oxidativa e Hormonal em Ratos com Hipotireoidismo**, 2025. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

O hipotireoidismo é uma condição caracterizada pela deficiência de hormônios tireoidianos que afeta principalmente mulheres e idosos e se relaciona a alterações no metabolismo, fígado e rins. Além disso, tem sido associado ao estresse oxidativo e a alterações bioquímicas, como a dislipidemia. O estresse oxidativo desempenha um papel fundamental no agravamento da doença e pode comprometer a homeostase hormonal. Embora o tratamento com levotiroxina seja eficaz, ele apresenta limitações, o que torna necessária a busca por terapias complementares. Nesse contexto, dietas ricas em frutas e vegetais, como as amoras, que contêm compostos bioativos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, podem ser benéficas no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como o hipotireoidismo. Dessa forma, este estudo avaliou os efeitos do extrato de amora-preta Cainguá sobre parâmetros oxidativos, bioquímicos e hormonais em ratos Wistar com hipotireoidismo induzido por Metimazol. Foram utilizados 24 ratos Wistar machos adultos, com 60 dias de idade, divididos em três grupos experimentais (n=8 por grupo): Controle (água), Hipotireoidismo (Metimazol) e Hipotireoidismo + extrato de Amora-preta Cainguá (150 mg/kg). A indução do hipotireoidismo foi realizada por meio da administração de Metimazol na água de beber, na concentração de 20 mg/100 mL, por 15 dias. Em seguida, os animais dos grupos hipotireoidismo continuaram recebendo metimazol e passaram a receber também o extrato de amora por mais 22 dias, até o término do experimento. Os resultados indicaram que os animais com hipotireoidismo apresentaram reduções significativas nos níveis de T3 e T4 e, o tratamento com o extrato de amora foi eficaz em reverter parcialmente a queda nos níveis de T4. Além disso, o extrato de amora exerceu efeitos benéficos, revertendo alterações nos níveis de triglicerídeos e colesterol total, que se mostraram diminuídos e aumentados, respectivamente, no grupo com hipotireoidismo. Por fim, foram observados efeitos positivos do extrato de amora sobre os parâmetros antioxidantes, especialmente a reversão dos níveis de peroxidação lipídica e atividade da enzima catalase. Esses achados sugerem que o extrato de amora pode contribuir para a redução do estresse oxidativo associado à disfunção tireoidiana, além de auxiliar na regulação do perfil hormonal e lipídico, apresentando-se como uma alternativa terapêutica complementar ao tratamento convencional.

Palavras-chave: Disfunção endócrina, Tireoide, Metimazol, Suplementação nutricional, Fitoquímicos.

ABSTRACT

DE ALMEIDA, Thaís Silva. **Evaluation of the Impact of Blackberry Aqueous Extract on Oxidative and Hormonal Modulation in Rats with Hypothyroidism**, 2025. Dissertation (Master's degree) - Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting. Federal University of Pelotas - UFPel, Pelotas.

Hypothyroidism is a condition characterized by a deficiency of thyroid hormones that mainly affects women and the elderly and is related to alterations in metabolism, liver and kidneys. It has also been associated with oxidative stress and biochemical alterations such as dyslipidemia. Oxidative stress plays a key role in worsening the disease and can compromise hormonal homeostasis. Although treatment with levothyroxine is effective, it has limitations, which makes it necessary to look for complementary therapies. In this context, diets rich in fruit and vegetables, such as blackberries, which contain bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, may be beneficial in the treatment of diseases related to oxidative stress, such as hypothyroidism. Therefore, this study evaluated the effects of Cainguá blackberry extract on oxidative, biochemical and hormonal parameters in Wistar rats with Methimazole-induced hypothyroidism. Twenty-four 60-day-old adult male Wistar rats were used, divided into three experimental groups (n=8 per group): Control (water), Hypothyroidism (Methimazole) and Hypothyroidism + Cainguá blackberry extract (150 mg/kg). Hypothyroidism was induced by administering Methimazole in the drinking water at a concentration of 20 mg/100 mL for 15 days. After this, the animals in the hypothyroidism groups continued to receive methimazole and were also given blackberry extract for a further 22 days, until the end of the experiment. The results indicated that the animals with hypothyroidism showed significant reductions in T3 and T4 levels, and treatment with the mulberry extract was effective in partially reversing the drop in T4 levels. In addition, the mulberry extract had beneficial effects, reversing changes in triglyceride and total cholesterol levels, which were decreased and increased, respectively, in the group with hypothyroidism. Finally, there were positive effects of blackberry extract on antioxidant parameters, especially the reversal of lipid peroxidation levels and catalase enzyme activity. These findings suggest that blackberry extract can help reduce the oxidative stress associated with thyroid dysfunction, as well as helping to regulate the hormonal and lipid profile, presenting itself as a complementary therapeutic alternative to conventional treatment.

Keywords: Endocrine dysfunction, Thyroid, Methimazole, Nutritional supplementation, Phytochemicals.

Lista de Figuras

Figura 1	Localização da tireoide	15
Figura 2	Mecanismo de regulação dos hormônios da tireoide	18
Figura 3	Frutas vermelhas ou “berries”	24

Lista de abreviaturas e siglas

ATA - American Thyroid Association

CAT - Catalase

DA - Dopamina

H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio (H₂O₂)

IMC - Índice de massa corporal

L-T3 – Levo Tri-iodotironina

L-T4 – Levotiroxina

MDA - Malondialdeído

NADPH oxidase - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase

NO - Óxido nítrico

NPSH - Tióis não proteicos

O₂⁻ - Superóxido

OONO⁻ - Peroxinitrito

RNS - Espécie reativa de nitrogênio

RNS – Nitrogênio

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SOD - Superóxido dismutase

SS - Somatostatina

T3 – Tri-iodotironina

T4 - Tiroxina

TBA - Ácido tiobarbitúrico

TgAb - Anticorpo antitireoglobulina

TPO - Tireoperoxidase

TPOAb - Anticorpo antiperoxidase tireoidiana

TRH – Tireotropina

TSH - Hormônio estimulante da tireoide

T-SH - Tióis proteicos

Apresentação

A presente dissertação conta com uma breve introdução, objetivos e revisão bibliográfica, seguida de um manuscrito científico. O manuscrito está apresentado nas normas de formatação do periódico científico, para o qual foi submetido.

Após o manuscrito apresenta-se uma discussão geral dos resultados seguida da conclusão e das perspectivas geradas.

SUMÁRIO

1. Introdução	12
2. Objetivos	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. Referencial teórico	16
3.1 Tireoide	16
3.2 Hipotireoidismo	18
3.3 Estresse Oxidativo	22
3.4 Extrato de amora	24
4. Manuscrito	27
5. Discussão	54
Referências Bibliográficas	58

1. INTRODUÇÃO

O hipotireoidismo é uma condição patológica comum caracterizada pela deficiência de hormônios tireoidianos, que se não tratado, pode causar sérios problemas de saúde (SBEM, 2024). Devido à ampla variação nos sintomas clínicos e a sua falta de especificidade, o diagnóstico é majoritariamente baseado nas dosagens hormonais. O hipotireoidismo pode ser classificado em diferentes tipos: primário, causado por disfunção na tireoide; secundário, causado por disfunção no hipotálamo ou na hipófise e subclínico (MANUAL MSD, 2024), quando os níveis dos hormônios Tiroxina (T4) e Triiodotirosina (T3) permanecem inalterados. O Hipotireoidismo primário, também conhecido como clínico, é caracterizado por concentrações elevadas do hormônio estimulante da tireoide (TSH) acima dos valores de referência e concentrações diminuídas dos hormônios T4 e T3 (CHAKER, et al., 2017).

O hipotireoidismo primário, caracterizado pela deficiência de hormônios tireoidianos resultante de disfunções na própria glândula tireoide, representa a condição endócrina mais comum. Sua prevalência na população geral é estimada entre 3,8% e 4,6% (CHAKERA et al., 2012). A prevalência de hipotireoidismo varia de 1% a 2%, aumentando para 7% em indivíduos com idade entre 85 e 89 anos, acometendo mais significativamente mulheres e idosos (TAYLOR et al., 2018). Os distúrbios da tireoide são a segunda doença metabólica mais comum, depois do diabetes mellitus, no mundo (MAHDAVI et al., 2021; SAJJADI-JAZI et al., 2018).

Na Europa, a prevalência total da doença diagnosticada é de 5% (CHIOVATO, et al. 2019) enquanto a forma não diagnosticada da doença atinge cerca de 4,7% da população. Além de ser mais frequente em mulheres (MENDES, et al., 2019), também são mais prevalentes em pacientes com doenças autoimunes, como diabetes tipo 1, atrofia gástrica autoimune e doença celíaca (CARLÉ et al., 2012). Além disso, a principal causa do hipotireoidismo é a deficiência de iodo, que é necessária para a síntese dos hormônios tireoidianos (THs) (WARTOFSKY E KLUBO-GWIEZDZINSKA 2019; ZIMMERMANN E BOELAERT 2015).

Nesse contexto, em regiões com aporte adequado de iodo, como o Brasil, a principal causa de hipotireoidismo é de origem autoimune. Nesses distúrbios

autoimunes, anticorpos atacam a glândula tireoide, levando à hipofunção do órgão (CHAKER et al., 2017). Um estudo realizado em São Paulo, com 200 pessoas, entre homens e mulheres com mais de 60 anos, revelou uma alta prevalência de hipotireoidismo (26,5%) na amostra analisada. Dos 53 idosos identificados com alterações nos níveis de TSH, 69,81% eram mulheres (TOMAZ, et al., 2016). Além disso, uma pesquisa conduzida no estado de Goiás mostrou que, entre as mulheres, a prevalência de hipotireoidismo subclínico foi de 10,5%, sendo a faixa etária de 40 a 49 anos a mais afetada, com 23,4%. Já para o hipotireoidismo clínico, a prevalência encontrada foi de 0,3%, com maior ocorrência na faixa etária de 70 a 79 anos, representando 44,5% (FERREIRA, et al., 2018).

O envolvimento do estresse oxidativo com os distúrbios tireoidianos vem sendo evidenciado e estudos observaram o aumento nos biomarcadores de estresse oxidativo em ratos com hipotireoidismo (SANTI et al., 2014; BALDISSARELLI et al., 2016). O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e/ou nitrogênio (RNS) e as defesas antioxidantes do organismo. Esse desequilíbrio desempenha um papel crucial na patogênese de várias comorbidades, como hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão e aterosclerose (HALLIWEL; WHITEMAN, 2004; JUNQUEIRA, 2004; YANG et al, 2010; RAVAROTTO et al., 2018).

A levotiroxina, também chamada de L-T4, é um hormônio tireoidiano sintético amplamente recomendado pelas diretrizes internacionais como o tratamento de escolha para pacientes com hipotireoidismo, devido à sua eficácia comprovada em normalizar a função tireoidiana e aliviar os sintomas do hipotireoidismo (JONKLAAS et al., 2014; BIONDI et al., 2014). Embora o tratamento de longo prazo com L-T4 normalize o perfil tireoidiano, o hipotireoidismo ainda está associado a complicações crônicas, como hiperlipidemia, obesidade secundária e doença arterial coronariana aterosclerótica, entre outras (BIONDI, et al., 2004). Além disso, a L-T4 possui um índice terapêutico estreito, o que possibilita que tanto o excesso quanto a insuficiência no tratamento possam comumente ocorrer (BIONDI et al., 2016), reforçando a necessidade de estratégias terapêuticas mais individualizadas e opções adjuvantes para otimizar os resultados clínicos.

Nesse contexto, quando a levotiroxina é administrada e parece ser insuficiente, fatores como hábitos de vida inadequados (como dieta, sono e estresse) e doenças coexistentes (como síndrome da fadiga crônica, depressão,

apneia do sono, outras doenças autoimunes, psiquiátricas ou abuso de substâncias) devem ser considerados. Após excluir outras causas potenciais para sintomas persistentes, a terapia combinada com L-T4 e T3 em ganhou cada vez mais apoio (MICHAELSSON et al., 2015; JONKLAAS et al., 2018).

A dieta habitual fornece nutrientes essenciais e compostos bioativos, presentes principalmente nas frutas e nos legumes, que têm benefícios comprovados para a saúde. Estudos indicam que dietas ricas em alimentos de origem vegetal ajudam a reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares, câncer, doenças metabólicas, neurodegenerativas e inflamatórias (ALEIXO et al., 2022). A inclusão de frutas e legumes, que são ricos em fitoquímicos, na dieta é, portanto, amplamente recomendada como estratégia para a prevenção de doenças crônicas. Um possível mecanismo de ação é que os fitoquímicos podem oferecer proteção contra espécies reativas de oxigênio (EROs), ajudando a reduzir o risco de processos patológicos e doenças associadas ao estresse oxidativo (LIU et al., 2003)

Folhas e frutos da amora-preta (*Rubus* sp.) são descritos como tendo a capacidade de reduzir a resistência à insulina, o estresse oxidativo e a inflamação (ZHENG et al., 2014). Além disso, a amora é utilizada para fins medicinais, nutritivos e cosméticos devido aos seus nutrientes valiosos e compostos bioativos, possui minerais, taninos, flavonoides, terpenos, ácidos e glicosídeos, os quais proporcionam diversos benefícios à saúde (ZIA-UI-HAQ et al., 2014). Uma pesquisa de 2005 estimou que havia mais de 20.000 espécies de amora-preta cultivadas globalmente. Segundo esse estudo, a Sérvia estava entre os maiores produtores mundiais de amora-preta, sendo que 69% da produção se concentrava na Europa (STRIK et al., 2007). Apesar dessa forte presença no mercado internacional, o cultivo da amoreira-preta também vem ganhando destaque em outras regiões, como no Brasil.

As frutíferas de clima temperado desempenham um papel significativo na economia brasileira, estando presentes em 11 dos 26 estados do país. O Rio Grande do Sul se destaca como o maior produtor, respondendo por cerca de 49,3% da produção nacional dessas frutas (FACHINELLO et al., 2011). Entre as espécies frutíferas com boas perspectivas de comercialização, destaca-se a amoreira-preta (*Rubus* sp.), pertencente à família Rosaceae e ao gênero *Rubus*. Essa cultura está amplamente difundida nas regiões Sul e Sudeste, ocupando a segunda posição

entre as pequenas frutas em termos de produção e área cultivada. No Rio Grande do Sul, a área destinada ao cultivo da amoreira-preta é de aproximadamente 240 hectares (ANTUNES et al., 2014). Segundo Clark e Finn (2008), as projeções para os próximos anos são promissoras, com expectativa de crescimento tanto na produção quanto no consumo dessa fruta.

Considerando a grande produção de amoras em nível mundial, diversos estudos têm explorado suas propriedades nutricionais e benefícios à saúde. No entanto, há uma escassez de pesquisas específicas sobre seus possíveis efeitos em distúrbios da tireoide, especialmente no hipotireoidismo. Diante disso, torna-se fundamental investigar novas aplicações para esse valioso recurso, buscando ampliar seu potencial de uso na área da saúde.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito do tratamento com extrato aquoso de amora – preta Caingua em parâmetros hormonais e oxidativos em um modelo experimental de hipotireoidismo.

2.2 Objetivos Específicos

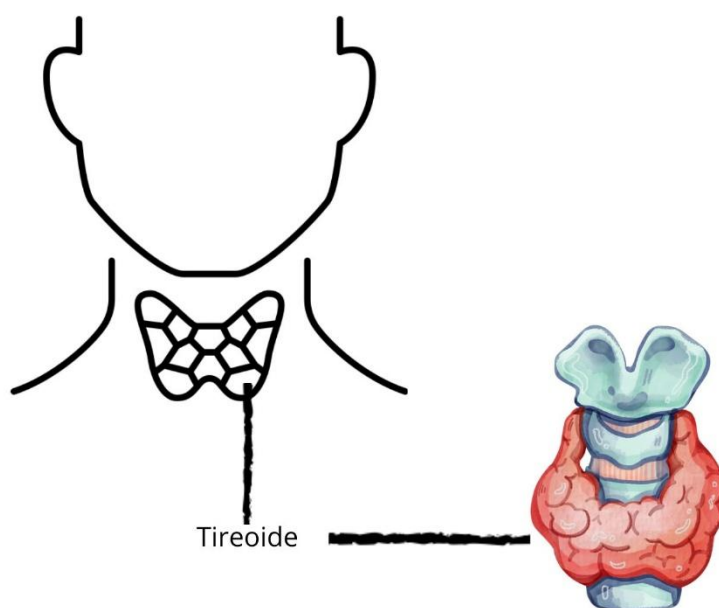
- Avaliar o efeito do extrato aquoso de amora nos níveis dos hormônios tireoidianos em ratos com hipotireoidismo.
- Avaliar o efeito do extrato aquoso de amora no peso e consumo hídrico dos ratos com hipotireoidismo.
- Avaliar o efeito do extrato aquoso de amora no perfil bioquímico dos ratos com hipotireoidismo.
- Avaliar os efeitos do tratamento com extrato aquoso de amora em parâmetros oxidantes e antioxidantes em fígado, rim e soro de ratos com hipotireoidismo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Tireoide

A tireoide, popularmente conhecida como glândula borboleta devido ao seu formato, pesa em média 20 gramas em seres humanos e 40 miligramas em ratos (AYADI et al., 2017; KAKLAMANOS et al., 2017) (Figura 1). É uma das maiores glândulas do sistema endócrino (RODRIGUES, et al., 2015), que libera secreções hormonais na corrente sanguínea (BORTOLUZZI et al., 2016). Localizada na parte anterior do pescoço, sua função principal é regular o metabolismo, além de influenciar no funcionamento de vários órgãos, como o coração, o cérebro, o fígado e os rins.

Figura 1: Localização da tireoide.



Adaptado de Fundação Mayo para educação médica e pesquisa

O hormônio estimulante da tireoide (TSH) é um hormônio glicoproteico liberado pela hipófise anterior sob a influência do hormônio liberador de tireotropina (TRH) do hipotálamo. O TSH, por sua vez, estimula a glândula tireoide a sintetizar e liberar hormônios tireoidianos, inibindo a liberação de TSH e TRH da hipófise e do hipotálamo correspondentemente, em um ciclo de feedback negativo. O TSH é mais alto durante o período de crescimento e tendem a aumentar em resposta ao estresse, esse aumento pode estar associado tanto a situações agudas quanto ao

estresse crônico (FAN et al., 2022). Além disso, a leptina, hormônio liberado, principalmente em resposta ao aumento dos estoques de gordura corporal e após a ingestão alimentar, ativa a liberação de TRH do hipotálamo. Por outro lado, a somatostatina (SS) e a dopamina (DA) inibem a liberação de TSH pela hipófise, assim como fazem os glicocorticoides e citocinas pró-inflamatórias (GORDON et al., 2010).

Considera-se que diversos micronutrientes são fundamentais para o metabolismo dos hormônios tireoidianos, incluindo iodo, selênio, zinco, ferro, vitamina A, magnésio e vitamina D, entre outros (CORDEIRO., 2020). Assim, a epidemiologia e as características clínicas das doenças da tireoide são influenciadas pelo suprimento de iodo, elemento fundamental para a síntese dos hormônios tireoidianos. Além disso, desequilíbrios significativos nos níveis de iodo podem causar efeitos adversos à saúde (BROTFAIN et al., 2013), como alterações na taxa metabólica e na termogênese, além de estarem associadas ao aumento do índice de massa corporal (IMC) e à obesidade (YIM, 2016).

O iodo é um oligoelemento essencial, necessário para a síntese hormonal e para o funcionamento adequado da glândula tireoide (ZIMMERMANN et al., 2015). Quando a ingestão de iodo na dieta é insuficiente, a função da tireoide é preservada por meio do aumento da depuração do iodo circulante. A deficiência de iodo desencadeia a secreção do hormônio estimulante da tireoide (TSH) pela glândula pituitária e intensifica a expressão do simportador de iodeto de sódio, otimizando a captação de iodo nas células tireoidianas (ZIMMERMANN et al., 2009).

O iodeto proveniente da dieta é captado e concentrado na tireoide através de um mecanismo ativado pelo TSH, por meio de transporte ativo contra um gradiente de concentração. Os hormônios tireoidianos são sintetizados a partir de moléculas intermediárias, principalmente a tetraiodotironina (T4-tiroxina). Esse processo envolve uma importante enzima heme, chamada tireoperoxidase (TPO), que catalisa a organificação do iodo na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (SCHOMBURG et al., 2012). A T4 constitui a maior parte dos hormônios secretados pela tireoide, enquanto apenas cerca de 10% do total secretado corresponde ao T3, que, apesar de menos abundante, é cerca de quatro vezes mais potente. Nos tecidos periféricos, pela ação da enzima desiodase 2, uma grande porção de T4 é convertida em T3, permitindo assim que exerça sua ação (BURCH., 2009; GUYTON E HALL., 2017). Dado que o iodo é um elemento essencial para a síntese dos

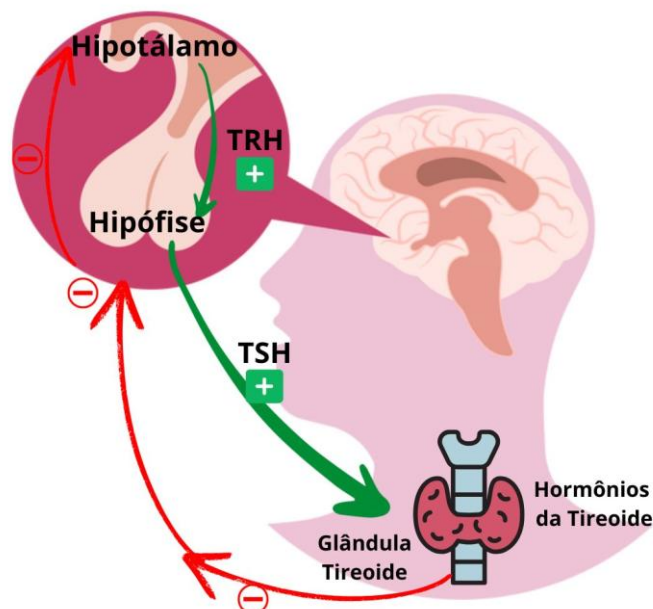
hormônios tireoidianos, a ingestão adequada desse mineral é um fator determinante para a produção eficiente de T3 e T4. Aproximadamente 150 microgramas diários são recomendados para garantir o bom funcionamento da tireoide. Além disso, é importante estar atento ao consumo de determinados alimentos que podem interferir na absorção de iodo e, conseqüentemente, na produção hormonal. Vegetais como repolho, nabo e couve contêm tiocianato, substância que pode inibir a função tireoidiana, enquanto a isoflavona presente na soja pode alterar o ritmo da produção hormonal da tireoide e prejudicar a absorção de iodo (OMS, 2004).

Além da ingestão inadequada de iodo, fatores dietéticos relacionados ao consumo excessivo de alimentos industrializados também podem impactar negativamente a função tireoidiana. O acúmulo de gordura corporal pode levar à inflamação sistêmica, dificultando a absorção de iodo pela tireoide e contribuindo para o desenvolvimento do hipotireoidismo. Além disso, o consumo excessivo de açúcar, presente em doces, bolos, sorvetes e farinhas refinadas (como pão, arroz e macarrão brancos), pode induzir resistência à insulina e aumentar o risco de diabetes. Alterações nos níveis de insulina no organismo têm sido associadas ao surgimento de nódulos tireoidianos e até mesmo ao câncer de tireoide (HALL et al., 2019). Nesse contexto, quando a tireoide passa por alguma alteração, pode haver uma redução na produção de hormônios, resultando em hipotireoidismo (RODRIGUES et al., 2015). Desta forma, o volume da glândula pode aumentar, levando à formação de bócio, que ocorre devido à falta de iodo ou à inflamação (FONSECA & VASCONCELOS 2019; TOMAZ et al., 2016).

3.2 Hipotireoidismo

Alterações na síntese de hormônios tireoidianos podem causar distúrbios importantes no organismo, como o hipotireoidismo e o hipertireoidismo, que são considerados como “distúrbios primários da tireoide”. Em casos mais raros podem ocorrer distúrbios secundários como alterações no hipotálamo e na hipófise, prejudicando a produção dos hormônios TRH ou TSH (ROSS et al., 2016; TAYLOR et al., 2018) (Figura 2).

Figura 2: Mecanismo de regulação dos hormônios da tireoide.



Produzido no CANVA pela autora.

Clinicamente, o hipotireoidismo é caracterizado por níveis de TSH elevados e níveis de T4 livre diminuídos. Entretanto, as manifestações desta doença são muito variadas, de modo que formas subclínicas também podem acometer uma parcela dos indivíduos. Nestes casos, geralmente os níveis de TSH encontram-se acima dos valores de referência, porém os níveis de T4 livres apresentam-se como normais (TAYLOR et al., 2018). Nesse contexto o hipotireoidismo pode ser classificado em primário, secundário e subclínico (MANUAL MSD, 2024)

A principal causa de hipotireoidismo primário em regiões com ingestão adequada de iodo é a tireoidite autoimune crônica, conhecida como tireoidite de Hashimoto (BIONDI et al., 2019). No entanto, globalmente, a deficiência de iodo continua sendo a principal causa de hipotireoidismo e bócio. Ela é caracterizada por uma ingestão de iodo inferior a 100 mcg/dia e afeta cerca de dois bilhões de pessoas (BIONDI et al., 2014). Devido à ampla variação nos sintomas clínicos e a sua falta de especificidade, o diagnóstico é predominantemente bioquímico.

A tireoidite de Hashimoto (CHAKER et al., 2017), caracteriza-se pelo desenvolvimento de autoanticorpos contra antígenos específicos da tireoide e pela infiltração de células inflamatórias na glândula. Esse processo leva à destruição

gradual e progressiva dos folículos tireoidianos, resultando frequentemente em hipotireoidismo (BUREK et al., 2009). Fatores genéticos contribuem com cerca de 70–80% dos casos, enquanto fatores ambientais e de estilo de vida — como consumo excessivo de álcool, desequilíbrio de exercícios, obesidade, má qualidade do sono e estresse psicossocial — representam 20–30% (ASEERVATHAM et al 2013; WIERSINGA et al., 2016). Esses fatores podem aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio e intensificar a inflamação na tireoide (ASEERVATHAM et al., 2013).

Há também o hipotireoidismo secundário, caracterizado por uma produção ou secreção insuficiente de TRH ou devido à presença de neoplasias, representando apenas 5% dos casos (MANUAL MSD, 2024; CAPPOLA et al., 2006). Essa condição decorre de distúrbios no hipotálamo ou na hipófise, resultando na diminuição da estimulação da tireoide. Pode ter origem congênita ou adquirida, sendo os adenomas hipofisários a principal causa. Outras possíveis causas incluem disfunções na hipófise e no hipotálamo, como infarto hipofisário, traumatismo cranioencefálico, síndrome de Sheehan, radioterapia, doenças infiltrativas e intervenções cirúrgicas (ZAMWAR; MUNESHWAR., 2023). Por outro lado, o hipotireoidismo primário é mais frequentemente causado pela tireoidite autoimune crônica (doença de Hashimoto), caracterizada por autoanticorpos (TPOAb e TgAb) e infiltração linfocitária da tireoide. Outras causas incluem danos à glândula, como terapia com iodo radioativo, radioterapia para câncer de cabeça e pescoço, tireoidectomia e exposição a certas substâncias (lítio, amiodarona, inibidores de tirosina quinase). Em alguns casos, pode ser congênito, devido a falhas no desenvolvimento da tireoide (disgenesia) ou defeitos genéticos na síntese hormonal (CHIOVATO; MAGRI e CARLÉ., 2019).

Embora o hipotireoidismo subclínico seja caracterizado por níveis normais de hormônios tireoidianos e uma elevação no hormônio estimulante da tireoide (TSH), ele tende a ser, na maioria dos casos, assintomático. Esse quadro é considerado uma condição compensada, em que o TSH elevado mantém a função normal da tireoide (Al-KURAISHY et al., 2021; Al-NAIMI et al., 2018), afetando entre 3% e 15% da população geral em todo o mundo, com uma prevalência acentuadamente maior entre mulheres adultas (PEETERS, 2017).

A L-T4 é o tratamento padrão para reposição hormonal em casos de hipotireoidismo primário (UNNIKRISHNAN et al., 2011). Quando administrada em

doses insuficientes, os sintomas típicos do hipotireoidismo, como cansaço, pele seca, queda de cabelo, constipação e desânimo, podem persistir. Em idosos, o uso inadequado pode levar à perda de massa óssea, aumentando o risco de osteoporose, além de provocar arritmias cardíacas. Por outro lado, doses excessivas de levotiroxina podem resultar em sintomas de hipertireoidismo, como perda de apetite, diarreia, fraqueza muscular e queda de cabelo (SBEM, 2020). De acordo com a American Thyroid Association (ATA, 2019), o tratamento inadequado do hipotireoidismo pode resultar em uma série de consequências negativas, incluindo a diminuição da capacidade física e mental. Além disso, essa condição pode levar a um aumento nos níveis de colesterol, o que, por sua vez, eleva o risco de desenvolver doenças cardíacas, afetando negativamente a qualidade de vida e a saúde cardiovascular, tornando o diagnóstico e tratamento precoces essenciais para a saúde (NHLBI, 2024), sob essa perspectiva, a literatura tem demonstrado que o estresse oxidativo pode ser associado ao hipotireoidismo (DOS ANJOS CORDEIRO et al., 2022).

O estresse oxidativo associado ao hipotireoidismo pode ocorrer por meio de metabólitos de radicais livres. Esses radicais reagem com o oxigênio, formando ânions superóxido e outras espécies reativas de oxigênio (EROs), que influenciam a atividade das enzimas antioxidantes (DEVIKA et al., 2008). Nesse contexto, estratégias antioxidantes têm sido exploradas para mitigar os danos causados pelo estresse oxidativo no hipotireoidismo. ABDEL WAHHAB et al., (2019) investigaram o papel do extrato metanólico de ashwagandha na regulação do perfil da tireoide em ratos com hipotireoidismo induzido. O estudo mostrou que o tratamento com tiroxina não foi eficaz em restaurar as alterações nos marcadores de estresse oxidativo hepático provocadas pelo propiltiouracil (PTU), um fármaco antitireoidiano, utilizado para induzir o hipotireoidismo em modelos experimentais, embora pudesse oferecer alguma proteção ao tecido renal. Em contrapartida, a administração do extrato metanólico de ashwagandha conseguiu melhorar os níveis desses marcadores, aproximando-os dos valores normais tanto no fígado quanto nos rins. Esses achados destacam o potencial antioxidante do extrato metanólico de ashwagandha sugerem a necessidade de explorar alternativas terapêuticas complementares.

Um fator importante que tem impulsionado as pesquisas nessa área é a observação de que, mesmo após o início do tratamento com levotiroxina, uma forma sintética de T4 que é a base do tratamento para hipotireoidismo, múltiplos sintomas

permanecem sem solução (STAMATOULI; BEDOYA; YAVU., 2020). Isso reforça a necessidade de explorar abordagens terapêuticas adicionais, como antioxidantes e moduladores do estresse oxidativo, para melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

3.3 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo é definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e os mecanismos antioxidantes endógenos, que têm a função de neutralizar os efeitos das EROs ou reparar os danos causados por elas (ANTONIEDES et al., 2003). Em condições normais, os níveis fisiológicos de ROS são mantidos baixos na célula por diferentes mecanismos de defesa antioxidante (SHIRZAD et al., 2022). Esse desequilíbrio pode levar a distúrbios hormonais e comprometer a homeostase oxidativa no organismo (MANCINI et al., 2016). Além disso, alguns estudos sugerem que fatores nutricionais, como a baixa ingestão de frutas e vegetais, estão associados ao aumento do estresse oxidativo detectado no sangue de pacientes com distúrbios da tireoide (GIANNAKOU et al., 2018; IHNATOWICZ et al., 2020).

A tireoide é um dos órgãos afetados por esse processo, pois a produção contínua de espécies reativas de oxigênio e outros radicais livres ocorre naturalmente durante a síntese dos hormônios tireoidianos. Muitos compostos bioquímicos podem ser danificados irreversivelmente ou reversivelmente por radicais livres, e esses componentes pró-oxidantes desempenham um papel tanto nos processos fisiológicos quanto patológicos da glândula tireoide (ALI et al., 2011; SANTI et al, 2010). Dentre as EROs produzidas pelo organismo, destaca-se o superóxido (O_2^-), que pode ser gerado pela cadeia respiratória mitocondrial ou por diversas enzimas, como a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NADPH oxidase) e a xantino oxidase. Apesar de sua meia-vida curta, o superóxido é altamente reativo e pode interagir com outros compostos, como o óxido nítrico (NO), formando peroxinitrito ($OONO^-$), uma espécie reativa de nitrogênio (RNS) potencialmente tóxica para o organismo (ZARKOVIC, 2020).

A peroxidação lipídica é um processo em que radicais livres, como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, atacam as ligações duplas carbono-carbono nos

lipídios. Esse processo envolve a remoção de um átomo de hidrogênio de um carbono e a adição de uma molécula de oxigênio. Como resultado, forma-se uma variedade de produtos complexos, incluindo radicais peroxil lipídicos e hidroperóxidos como produtos primários, além de malondialdeído (MDA) e 4-hidroxinonenal, que são produtos secundários predominantes (TSIKAS, 2017). O MDA é amplamente utilizado em pesquisas biomédicas como marcador de peroxidação lipídica, pois reage facilmente com o ácido tiobarbitúrico (TBA), formando o conjugado MDA-TBA₂, que absorve a 532 nm no espectro visível e produz uma coloração vermelho-rosada (OHKAWA et al., 1978). O ensaio TBARS é geralmente considerado um bom indicador dos níveis gerais de estresse oxidativo (DASGUPTA et al., 2014).

Diante desse cenário de desequilíbrio redox, os sistemas antioxidantes, compostos por moléculas não enzimáticas e enzimas específicas, desempenham um papel fundamental na neutralização das espécies reativas de oxigênio e na prevenção dos danos celulares. A vitamina C (ácido ascórbico), uma vitamina hidrossolúvel abundante em vegetais, frutas cítricas, frutas secas e fígados de animais, exerce sua ação inibindo a peroxidação lipídica e reduzindo os danos provocados pelas EROs (BAGATINI et al., 2018). Além disso, os tióis proteicos (T-SH) e não proteicos (NPSH) são exemplos de antioxidantes que desempenham um papel crucial na defesa contra essas espécies reativas.

Entre os mecanismos enzimáticos de defesa, destacam-se a ação da superóxido dismutase (SOD) e da catalase (CAT), que atuam de forma coordenada para mitigar o estresse oxidativo. A SOD converte o ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), uma das principais EROs geradas no metabolismo celular, em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um composto menos reativo. A maioria das análises de SOD é realizada de forma indireta, geralmente por meio da adição do sistema xantina-xantina oxidase aos eritrócitos, que serve como fonte de $O_2^{\bullet-}$ (NEVE et al, 2009; SOUSA et al, 2007), e de um composto suscetível à sua redução, como o 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-clorofeniltetrazol (INT, $C_{19}H_{13}ClIN_5O_2 \cdot xH_2O$, M.M. 505,7 g/mol). O $O_2^{\bullet-}$ transfere um elétron ao INT, formando formazana, que é detectada por espectrofotometria a 505 nm. A atividade da SOD é determinada pelo grau de inibição dessa reação, sendo expressa em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb), com uma inibição de 50% considerada equivalente a uma unidade de SOD (VASCONCELOS et al., 2007).

Complementando a ação da SOD, a CAT é responsável por degradar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerado, impedindo a formação de radicais hidroxila altamente tóxicos. Presente principalmente nos peroxissomos — organelas essenciais para a desintoxicação celular — e também nas mitocôndrias de células do tecido cardíaco, a CAT converte o H_2O_2 em água e oxigênio. Sua atividade é comumente avaliada por métodos que medem a redução da concentração de H_2O_2 ou a geração de oxigênio, com leitura espectrofotométrica no ultravioleta a 240 nm. Os resultados são expressos em unidades por grama de hemoglobina (U/g Hb), sendo que uma unidade de CAT representa a quantidade de enzima necessária para consumir 1 μ mol de H_2O_2 em um minuto (VASCONCELOS et al., 2007).

Esses mecanismos antioxidantes podem ser modulados por fatores endógenos, como os hormônios tireoidianos, que desempenham um papel importante na regulação do metabolismo e no equilíbrio redox. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstram que os hormônios da tireoide influenciam os sistemas antioxidantes do organismo. Distúrbios tireoidianos, como o hipotireoidismo, estão associados a um aumento do estresse oxidativo, com consequente redução das defesas antioxidantes (RESCH et al., 2002; CHOUDHURY et al., 2003; WEYEMI et al., 2010; VENDITTI et al., 2013; MANCINI et al., 2016).

Além da modulação hormonal, a dieta desempenha um papel relevante na manutenção do equilíbrio oxidativo. Um número crescente de estudos indica que uma alimentação saudável, rica em alimentos antioxidantes, pode reduzir ou até prevenir os efeitos prejudiciais do estresse oxidativo (NEHA et al., 2019). Em particular, os hormônios tireoidianos T3 e T4 parecem potencializar a capacidade antioxidante ao promover a expressão de genes específicos envolvidos na defesa celular, dado o seu impacto significativo no metabolismo mitocondrial (HUANG et al., 2019). Assim, tanto os fatores nutricionais quanto os hormonais se mostram essenciais para o controle do estresse oxidativo e a preservação da homeostase celular.

3.4 Extrato de amora

Diversos produtos naturais estão relacionados com a promoção da saúde, mas especial atenção tem sido dada a alimentos que reduzem o estresse oxidativo e

melhoram o perfil lipídico e suas implicações no envelhecimento, degeneração neurológica e cardiovascular. Os alimentos com maior potencial de atividade biológica são plantas e seus derivados, como as frutas vermelhas ou “berries” (morango, mirtilo, cereja, framboesa, amoras, etc (CANADA., 2012; PAREDES-LÓPEZ et al., 2010)), (Figura 3). Além disso, os compostos fenólicos isolados ou frutos ricos nesses compostos apresentam-se como alternativas promissoras.

Figura 3: Frutas vermelhas ou “berries”



Produzido no CANVA pela autora.

Os compostos fenólicos englobam uma grande diversidade de substâncias bioativas, cujos benefícios à saúde já foram amplamente comprovados, especialmente no que diz respeito às suas atividades antioxidante e neuroprotetora (PENUMALA et al., 2018). Antocianinas e antocianidinas, assim como outros polifenóis e flavonoides, têm a capacidade de atuar como eliminadores de radicais livres, combatendo oxidantes prejudiciais, como as ERO (NIMSE et al., 2015). Além disso, as antocianinas, uma classe de flavonoides solúveis em água derivadas da via fenilpropanoide, são glicosídeos das antocianidinas e são amplamente encontradas em frutas e vegetais. Elas estão presentes em todos os tecidos das plantas superiores, incluindo folhas, caules, raízes, flores e frutos. Entre as principais fontes alimentares de antocianinas estão frutas vermelhas e roxas, uvas, maçãs, ameixas, repolho e alimentos com altos níveis de corantes naturais. As seis

antocianidinas mais comuns nos alimentos são cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, petunidina e malvidina (KHOO et al., 2017; HE et al., 2010), benéficas na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como as doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (MOTTIOLI et al., 2020).

A amora-preta (*Rubus* sp.) pertence à família Rosaceae e é nativa dos Estados Unidos. Contudo, suas variedades são bem adaptadas ao clima da região sul do Brasil, onde demonstram alta produtividade. Essa adaptação ao clima brasileiro contribui para o cultivo e a popularidade da amora-preta na região, promovendo seu uso tanto na alimentação quanto na indústria (TAVARES et al., 2012; ANTUNES e PERES., 2013). Estudo realizado por Chaves et al., (2020) demonstrou que o extrato de amora-preta (*Rubus* sp.) pode reduzir os danos oxidativos em modelos experimentais. Essa pesquisa destaca os efeitos benéficos do extrato, sugerindo que ele pode atuar como um agente antioxidante, contribuindo para a proteção celular contra o estresse oxidativo.

Neste contexto, diversos estudos destacaram as atividades antioxidantes do extrato de antocianina extraído de diferentes matrizes agrícolas e alimentares. O estudo de Khoo et al., (2017) relatou que as antocianinas, pigmentos coloridos presentes nas plantas, oferecem diversos benefícios à saúde. Além de serem corantes de valor agregado, podem ajudar na prevenção de várias doenças, incluindo doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, algumas doenças metabólicas e infecções microbianas. Outro estudo conduzido por Sang-In et al., (2016), intitulado "Efeitos terapêuticos da madressilva azul (BH) em lesões causadas por hipertireoidismo em ratos", revelou que os extratos de BH promovem melhorias no hipertireoidismo e nos danos ao fígado. Isso se deve ao fato de que os principais componentes do BH apresentam potentes propriedades antioxidantes. Sob outra perspectiva, Imad et al., (2022), realizaram um estudo comparativo entre uma combinação de extratos vegetais e fármacos sobre hormônios tireoidianos e o perfil lipídico em animais experimentais. Os resultados mostraram que ambas as misturas influenciaram os hormônios tireoidianos e o perfil lipídico, induzindo tanto hipotireoidismo quanto hipertireoidismo. No entanto, a combinação de *Fucus vesiculosus* com *Coleus forskohlii* demonstrou ser mais eficaz contra o hipotireoidismo do que a levotiroxina.

Dado o caráter multifatorial do hipotireoidismo e a limitada eficácia dos tratamentos atuais em reverter os danos existentes, prevenir a progressão da

doença e evitar seus efeitos adversos, torna-se essencial a busca por novas alternativas terapêuticas. Nesse cenário, produtos naturais, como frutos ou compostos isolados, emergem como uma opção promissora, tendo em vista que já demonstraram efeitos positivos em desordens oxidativas (PATEL et al., 2018; MAROYI et al., 2018).

4 MANUSCRITO

Caingá blackberry extract improves oxidative and biochemical parameters in rats with hypothyroidism

Thaís Silva de Almeida^{1,3}, Ana Carolina Teixeira De Oliveira^{1,3}, Ana Clara dos Anjos Alvarenga³, Anita Avila^{1,4}, Roselia Spanevello^{1,4}, Amanda Fonseca Leitzke⁵, Catarine Peter Beletti⁵, Claudio Martin Pereira de Pereira^{1,5}, Jucimara Baldissarelli^{1,2,3},

¹ Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Brazil;

² Multicentric Postgraduate Program in Physiological Sciences, Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pelotas, Brazil;

³ Laboratory of Pharmacology and Metabolism, Department of Physiology and Pharmacology, Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil;

⁴ Laboratory of Neurochemistry, Inflammation and Cancer, Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil;

⁵ Laboratory of Innovation and Solutions in Chemistry, Department of Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Brazil;

Abstract

Hypothyroidism is a condition characterized by a deficiency of thyroid hormones, affecting the metabolism, liver and kidneys, and is associated with oxidative stress and biochemical alterations such as dyslipidemia. Diets rich in fruits and vegetables, such as blackberries, offer bioactive compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, which may be beneficial in various diseases. This study investigated the effects of Cainguá blackberry aqueous extract on oxidative and biochemical parameters in Wistar rats with methimazole-induced hypothyroidism. A total of 24 rats were divided into three groups: Control, Hypothyroidism and Hypothyroidism + Cainguá blackberry aqueous extract (150 mg/kg). After 15 days of methimazole administration, the animals received the blackberry extract for 22 days, totaling 37 days of the experiment. The results showed that the animals with hypothyroidism had a significant reduction in triglyceride levels and an increase in total cholesterol, both of which were reversed by the extract. In addition, the extract was able to restore some oxidative and antioxidant parameters that were altered in the group with hypothyroidism, as well as partially restoring T4 levels. In conclusion, mulberry extract showed antioxidant benefits that could attenuate oxidative stress related to thyroid dysfunction, as well as regulating the hormonal and lipid profile, acting as a possible adjunct treatment for hypothyroidism.

Key Words: Thyroid gland, Antioxidant enzymes, Free radicals, Hypothalamic-pituitary-thyroid axis.

INTRODUCTION

Thyroid disorders are the second most common metabolic disease, after diabetes mellitus, in the world (MAHDAVI et al., 2021; SAJJADI-JAZI et al., 2018). Hypothyroidism is a common pathological condition characterized by a deficiency of thyroid hormones, Thyroxine (T4) and Triiodothyrosine (T3), which, if untreated, can cause serious health problems (SBEM, 2024). The prevalence of hypothyroidism ranges from 1% to 2%, rising to 7% in individuals aged between 85 and 89, affecting women and the elderly more significantly (TAYLOR et al., 2018).

In addition, the main cause of hypothyroidism is iodine deficiency, which is essential for the synthesis of thyroid hormones (WARTOFSKY and KLUBOGWIEZDZINSKA, 2019; ZIMMERMANN and BOELAERT, 2015). However, this etiology varies according to the availability of iodine. In regions with an adequate supply of iodine, the main cause of hypothyroidism is autoimmune, a condition marked by an inadequate immune response, which compromises thyroid function (SBEM, 2018).

In this context, understanding the biological processes that regulate thyroid function is essential for developing new therapies. The metabolism of thyroid hormones is regulated by the iodothyronine-seleno-deiodinase system, made up of type 1 (D1), type 2 (D2) and type 3 (D3) deiodinase enzymes. These enzymes perform critical functions, such as converting the pro-hormone T4 into its active form T3, conducted by D1, mainly in the liver and kidneys, and by D2, present in the pituitary gland, central nervous system and skeletal muscle. In addition, they inactivate T3 or prevent the activation of T4, converting it into the inactive metabolite reverse T3, a process conducted by D3 (BIANCO et al, 2006).

The liver is often seen as a hormone-independent organ. However, there is a complex relationship between the thyroid gland and the liver, both in conditions of health and disease, and this interaction is fundamental to maintaining homeostasis in both organs (PIANTANIDA et al., 2020). This connection becomes evident when considering the crucial role of thyroid hormones in cell metabolism throughout the body. Because of its metabolic relevance, the liver is directly impacted by thyroid disorders, such as hypothyroidism, which can alter important liver functions (SINHA RA et al., 2018). In addition, thyroid dysfunctions are directly associated with patients with chronic kidney disease (IGLESIAS et al., 2017). These aspects reinforce the complex interaction between the thyroid, liver and kidneys, highlighting the systemic impact of thyroid disorders and their influence on the metabolic and functional homeostasis of these organs.

The involvement of oxidative stress with thyroid disorders has been evidenced and studies have observed an increase in oxidative stress biomarkers in rats with hypothyroidism (SANTI et al., 2014; BALDISSARELLI et al., 2016). Oxidative stress occurs when there is an imbalance between the production of reactive oxygen (ROS) and/or nitrogen (RNS) species and the body's antioxidant defenses. This imbalance plays a crucial role in the pathogenesis of various comorbidities, such as hyperglycemia, dyslipidemia, hypertension and atherosclerosis (HALLIWEL; WHITEMAN, 2004; JUNQUEIRA, 2004; YANG et al., 2010; RAVAROTTO et al., 2018).

Levothyroxine, also known as T4, is a synthetic thyroid hormone widely recommended by international guidelines as the treatment of choice for patients with hypothyroidism (JONKLAAS et al., 2014; BIONDI et al., 2014). Although long-term treatment with T4 normalizes the thyroid profile, hypothyroidism is still associated

with chronic complications such as hyperlipidemia, secondary obesity and atherosclerotic coronary artery disease, among others (BIONDI et al., 2004). In addition, T4 has a narrow therapeutic index, which makes it easy to over- and under-treat (WARD et al., 2011), making the search for new adjuvant treatments options of great relevance.

Studies indicate that diets rich in plant-based foods help to reduce the risk of chronic non-communicable diseases, such as cardiovascular diseases, cancer, metabolic, neurodegenerative and inflammatory disorders (LEITZMANN, 2014; KAHLEOVA et al., 2017). Thus, the inclusion of fruits and vegetables, which are rich in phytochemicals, to the diet, is widely recommended as a strategy for the prevention of chronic diseases. One possible mechanism of action is that phytochemicals may offer protection against reactive oxygen species (ROS), helping to reduce the risk of various pathological processes and diseases associated with oxidative stress (LIU et al., 2007).

In this context, Berries leaves and fruits are described as having the ability to reduce insulin resistance (ZHENG et al., 2014), oxidative stress and inflammation (ZHENG et al., 2014). In addition, blackberry is used for medicinal, nutritional and cosmetic purposes due to its valuable nutrients and bioactive compounds. It has minerals, tannins, flavonoids, terpenes, acids and glycosides, which provide health benefits (ZIA-UL-HAQ et al., 2014). Given the significant production of blackberries and the limited number of studies focused on hypothyroidism, it is essential to seek applications for this valuable resource, maximizing its impact on health and science.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of the extract

The Cainguá blackberry, developed by Embrapa Clima Temperado, RS, Brazil, was used in this study. The fruit was harvested in 2019, and the BRS Cainguá cultivar requires between 200 and 300 hours of cooling in winter, with temperatures at or below 7.2°C. The extract was prepared following the method described by (CARDOSO et al., 2018, OLIVEIRA et al., 2018). To prepare the extract, 6 g of frozen Cainguá blackberry fruit were sonicated in 360 mL of methanol at 36 °C for 50 minutes. The material was then filtered through filter paper and the solvent removed by evaporation under a rotation of 60 rpm, pressure of 180 mmHg and temperature of 37 °C. The extract obtained was lyophilized by sublimation at -99 °C using a model K108 lyophilizer, suitable for samples with organic solvent. The samples were previously frozen at -80 °C.

Animals

Adult male Wistar rats (n = 24), aged 60 days, from the Central Bioterium of the Federal University of Pelotas (Pelotas - RS, Brasil) were used. All were kept under a 12-hour light/dark cycle, with free access to food and water or methimazole solution. The procedures followed the Brazilian Guidelines for the Care and Use of Animals in Teaching or Scientific Research Activities - CONCEA, and the project was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation of the Federal University of Pelotas (CEEA nº 12594-2020).

Experimental design

The animals were divided into three experimental groups (n=8 animals per group): Control (water), hypothyroidism (Methimazole - MMI), hypothyroidism +

Cainguá blackberry extract (150mg/kg). To induce hypothyroidism, the antithyroid drug Methimazole was administered for 15 days to the animals, *ad libitum*, in the drinking water at a concentration of 20 mg/100 mL (BALDISSARELLI et al., 2016). After this, the animals also began to receive the cainguá blackberry extract during 22 days. The MMI was administered until the end of the experiment. During this period, the animals the control group received only pure water. The cainguá blackberry extract treatment was administered orally by gavage and the volume administered did not exceed 1mL/kg of the rat's weight. The doses of the extract were chosen on the basis of previous studies (ABOUZED et al., 2020; DE MELLO et al.; 2024; BADAVID et al., 2022).

During the experimental period, water and MMI consumption was recorded every two days and the weekly average was calculated, considering the number of animals per box. To euthanize the animals, isoflurane was used as the anesthetic agent. After decapitation, the organs (liver and kidneys) were carefully removed, separated and stored in a freezer at -80 °C until analysis.

Measurement of T3 and T4 levels

The induction of hypothyroidism by MMI was evaluated by the measurement of Triiodothyronine (T3) and Thyroxine (T4) blood levels. These analyses were performed in the Atellica IM analyzer (Siemens®), by chemiluminescence. Total T3 levels were expressed in ng/ml, while T4 levels were quantified in mcg/dL in serum, respectively.

Biochemical profile measurements

Analyses of serum glucose (Ref:133), total cholesterol (Ref:13), HDL cholesterol (Ref:13-50), triglycerides (Ref:87), uric acid (Ref:140-1/100) and

creatinine (Ref:96) were carried out by spectrophotometry, according to the determinations of the commercial kits from Labtest (Lagoa Santa/MG/Brazil).

Oxidative parameters

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

TBARS levels were determined using the method described by Ohkawa et al., (1978). Briefly, the samples were centrifuged to obtain the supernatant, to which 0.8% thiobarbituric acid (TBA) was added. The mixture was incubated in a water bath at 95 °C for 1 hour and 30 minutes. The absorbance was measured in a spectrophotometer at 532 nm, and the results were expressed in nmol of TBARS/mg of protein.

Total thiol content

The levels of total (T-SH) and non-protein thiol groups (NPSH) were assessed using the method described by Ellman (1959). For TSH, 100 µL of the samples was mixed with 850 µL of 1 M potassium phosphate buffer (TFK), pH 7.4 and 10 mM 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB). For NPSH, before the reaction, 300 µL of the sample was mixed with 300 µL of 10% trichloroacetic acid (TCA) and, after homogenization, the tubes were centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes. The pellet resulting from denaturation was discarded and only the supernatant was used. The absorbance was measured at 412 nm, and the results were expressed in µmol/ml of supernatant.

Ascorbic acid content

The ascorbic acid (vitamin C) content was determined according to the method described by Roe et al. (1943). Briefly, 200 µL of the sample was mixed with

50 μL of 13.3% trichloroacetic acid (TCA). Then 40 μL of dinitrophenylhydrazine (DNPH) at 4.5 mg/mL were added, and the mixture was incubated for 2 hours at 37 °C. The reaction was stopped with 65% (12M) sulfuric acid (H_2SO_4). The absorbance was measured at 520 nm, and the results were expressed in $\mu\text{mol/mL}$ of vitamin C.

Superoxide dismutase and catalase activities

The activity of superoxide dismutase (SOD) was determined according to the method described by Misra and Fridovich (1972), based on the autoxidation of adrenaline, which is strongly dependent on oxygen. One unit of SOD is defined as the amount of enzyme needed to inhibit 50% of the autoxidation of epinephrine. Specific activity was expressed in units (U)/mg of protein.

Catalase (CAT) activity was assessed according to the method of Aebi (1984), in which the disappearance of H_2O_2 was monitored continuously in a spectrophotometer at 240 nm for 90 seconds. One unit of CAT was defined as 1 mmol of H_2O_2 consumed per minute, and the specific activity was expressed as U/mg of protein.

Statistical analysis

The data was analyzed using GraphPad Prism software (version 9.0; GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The parameters were evaluated by one-way ANOVA, followed by Tukey's post hoc test. Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant differences.

RESULTS

MMI consumption

In relation to MMI consumption (Figure 1), it was observed that in the first week, there was no significant reduction in the hypothyroid group compared to the control group. However, in the second week, a decrease in MMI consumption in this group can be observed (* $P < 0.05$). During the third week, when the animals began to receive the blackberry extract, the hypothyroid group showed a reduction in MMI consumption compared to the control group (*** $P < 0.001$). However, in the hypothyroidism + extract group, it is possible to note that this reduction was reversed (## $P < 0.01$), which was also similar in the fourth week.

In the fifth week, the hypothyroid group continued to show a reduction in MMI consumption compared to the control (**** $P < 0.0001$). However, although in the hypothyroidism + extract group there was a significant increase compared to the hypothyroidism group (#### $P < 0.0001$), the levels did not reach those of the control group (**** $P < 0.0001$), showing only a partial reversion.

Measurement of T3 and T4 levels and body weight

In the Table 1 it was demonstrated the levels of the hormones T3 and T4 in the blood of animals with hypothyroidism. It can be seen that the animals in the hypothyroid group had a significant reduction in T3 (*** $P < 0.001$) and T4 levels (**** $P < 0.0001$). However, treatment with cainguá blackberry extract was able to revert this effect in T4 levels (# $P < 0.05$).

In addition, the final body weight of the animals was assessed and it was observed that those belonging to the hypothyroid and hypothyroid treated with the extract groups showed a significant reduction in final body weight (**** $P < 0.0001$).

Serum biochemical analysis

The results of the serum biochemical analysis of the animals with hypothyroidism treated with cainguá blackberry extract (150 mg/kg) are shown in Figure 2. The animals in the hypothyroid group showed a significant reduction in triglyceride levels (** $P < 0.01$). On the other hand, treatment with the extract reversed this change ($^{\#}P < 0.05$) (Fig. 2A). With regard to uric acid, creatinine, glucose and HDL levels, no significant differences were observed between the experimental groups (Fig. 2B-C-D-F). However, the animals in the hypothyroid group showed a significant increase in total cholesterol levels (* $P < 0.05$), which was reversed by treatment with cainguá blackberry extract ($^{\#\#}P < 0.01$).

Oxidative parameters

As shown in Figure 3, the levels of protein and non-protein thiols and ascorbic acid in the liver of the animals with hypothyroidism revealed that treatment with blackberry cainguá extract (150 mg/kg) did not significantly alter TSH levels. On the other hand, the animals in the hypothyroid group showed significant reductions in NPSH and ascorbic acid levels (Fig. 3B-C) and a significant increase in TBARS levels (* $P < 0.05$) (Fig 3D). The treatment with blackberry extract. was not able to reverse NPSH and ascorbic acid levels but TBARS levels were partially reestablished.

In Figure 4, it can be seen that the levels of protein and non-protein thiols in the kidney of animals with hypothyroidism were altered. Treatment with blackberry extract (150 mg/kg) was not able to reverse TSH levels. However, animals in the hypothyroidism group did not show significant reductions in NPSH and ascorbic acid levels (* $P < 0.05$) (Fig. 4B-C). On the other hand, TBARS levels did not change in the

hypothyroid group, but there was a decrease in the group treated with the extract ($\#P<0.05$) (Fig. 4D).

Figure 5A shows that the animals in the hypothyroid group showed a significant decrease in the activity of the enzyme CAT ($**P<0.01$), and treatment with the cainguá blackberry extract (150 mg/kg) reversed this change ($\#P<0.05$). In relation to the activity of the SOD, shown in Figure 5B, there was a significant reduction in the group with hypothyroidism ($*P<0.05$). However, treatment with the extract did not provide any significant difference in this parameter.

DISCUSSION

Studies into hypothyroidism are essential for understanding its pathophysiological mechanisms, its impact on health and for developing new therapeutic strategies. Although traditional treatment with hormone replacement is effective, there is growing interest in the search for natural alternatives that can complement this approach (CHAKER et al., 2017). Among these options are the bioactive compounds present in plant extracts, such as blackberry, which can positively influence thyroid function and reduce the adverse effects of the disease (SANTOS et al., 2011). At the same time, berries have gained prominence in recent decades due to their high concentration of bioactive compounds, such as anthocyanins and flavonoids, especially in intensely colored varieties. Fruits from the Rosaceae (such as strawberry, raspberry and blackberry) and Ericaceae (such as blueberry and cranberry) families are widely recognized for their functional potential and are used in the food industry (SKROVANKOVA, SONA et al., 2015).

Hypothyroidism is often induced experimentally with the use of antithyroid drugs. This study used methimazole, a drug widely used to induce hypothyroidism in

experimental models. Its administration inhibits the oxidation reactions catalyzed by the enzyme thyroperoxidase (TPO), preventing the iodination of the tyrosyl residues of thyroglobulin and, consequently, the formation of iodothyrosines (TUTUNCU et al., 2007; GILMAN et al., 1996). Confirmation of induction was made by measuring the levels of the hormones T3 and T4. Although cainguá blackberry extract (150 mg/kg) was evaluated as a possible intervention, the results indicated that it was unable to restore T3 levels. However, with regard to T4, the extract showed a significant effect, managing to increase significantly its levels in hypothyroid animals. This finding was surprising given the large reduction observed and because the difficulty in modulating thyroid hormones through plant extracts was already expected, since previous studies have reported this limitation (MEZZOMO et al., 2016)

One explanation for T4 being reversed in treated rats, while T3 is not may be related to the fact that T4 is the main hormone secreted by the thyroid, while T3 is mostly produced in the periphery by conversion from T4 (MANUAL MSD, 2024). This means that changes in thyroid production directly affect T4 levels in the blood, while T3 can remain initially decreased due to the non-regulation of peripheral conversion (PIMENTEL et al., 2005).

Regarding to weight gain, the animals in the hypothyroidism group had a lower weight gain than the control group, resulting in a significantly lower final weight. This finding was expected and is in line with the study by Dias et al., (2012), who also observed this effect when inducing hypothyroidism through the use of MMI. This contrasts with what happens in humans, in whom the disease usually leads to weight gain (WILSON et al., 2021) and we speculate that this may be happening due to the experimental model. MMI was used to induce hypothyroidism and was given in the drink water, therefore, it is important to evaluate if it consumption. From the second

week, the hypothyroid group showed a reduction in MMI consumption which remained until the end of the treatment. On the other hand, with the administration of blackberry extract from the third week, this reduction was reversed. In the fifth week, the MMI consumption in the hypothyroidism group remained lower than in the control group, and although it is increased in the hypothyroid treated group, the reversal was only partial. It is possible to suggest that the lower weight gain of animals with hypothyroidism is related to the decrease in water consumption that also occurred in these animals. On the other hand, the treatment was unable to reverse this loss, possibly because, even though the treated animals increased their water consumption, they did not reach the amount consumed in the control group.

In this context, the reduced water consumption by rats treated with MMI can be attributed to the dysregulation of appetite and thirst caused by the deficiency of thyroid hormones. This deficiency affects the thirst control center in the brain, decreasing the sensation of thirst and resulting in lower water intake, due to the impairment of metabolism and fluid regulation by induced hypothyroidism (MCANINCH et al., 2014).

The results of the biochemical analyses revealed significant changes in some parameters. It was observed that the animals from the hypothyroid group showed a significant reduction in triglyceride levels, an effect that was reversed by treatment with the cainguá blackberry extract. Although research about the effects of cainguá blackberry extract in biochemical parameters, especially triglycerides levels in hypothyroid conditions is limited, some studies have explored the effects of plant extracts on lipid and hormonal parameters (MAGRI., et al. 2020).

The reduction in triglycerides in the hypothyroid group may be related to lower synthesis and higher uptake of fatty acids due to hormone deficiency. The blackberry

extract from cainguá reversed this effect, possibly due to its antioxidant and lipid metabolism modulating properties, stimulating enzymes involved in lipid mobilization and improving liver function. On the other hand, as for uric acid, creatinine, glucose and HDL levels, no significant differences were detected between the experimental groups.

The animals with hypothyroidism showed a significant increase in total cholesterol levels, an effect that was reversed with treatment with the cainguá blackberry extract. In this line, the study conducted by Marques and Teixeira (2008), shows that *Morus nigra* L., a species of tree that produces dark red, edible fruit, have significant therapeutic potential, being able to significantly reduce plasma levels of total cholesterol through the use of its aqueous extract. Blueberries have been widely recognized for their potential in combating chronic diseases, due to their richness in phenolic compounds, especially anthocyanins (BARNES et al., 2009). These compounds play a role in modulating the lipid profile, which is directly associated with cardiovascular, metabolic and inflammatory diseases (GAZIANO, 2015). Changes parameters of the lipid profile can indicate metabolic dysfunctions that favor the development of several diseases (LIBBY, 2007). Therefore, reducing total cholesterol in hypothyroidism is important because this condition is associated with a slower metabolism, affecting lipid regulation and increasing the risk of secondary disease.

In addition, treatment with blackberry extract reversed the increase in TBARS levels in the liver. These results are in agreement with the findings of Król et al., (2016), who reported an increase in lipid peroxidation under conditions of hyperglycemia and its reduction with blackberry extracts (*Morus alba*). On the other hand, in kidney there were no difference in TBARS levels in hypothyroid animals. Possible, the kidneys may be more resistant to lipid membrane damage, and this

effect could only be seen with greater injury. Interestingly, however, there was a decrease in TBARS levels in animals treated with the extract. These results demonstrate the antioxidant potential of blackberry extract by reducing lipid peroxidation that can occur in hypothyroidism.

The animals of hypothyroidism group showed a significant increase in NPSH and ascorbic acid levels in the liver. However, this finding contrasts with what is reported in the literature. Santi et al., (2014) demonstrated that treatment with methimazole caused a significant reduction in ascorbic acid levels in the liver and kidneys of rats. Marchiori et al., (2015) demonstrated a significant reduction in NPSH levels in patients with hypothyroidism. It is possible to suggest that the result demonstrated in our study reflects a response from the body's defense system, which initially increases these levels to combat oxidative stress. In addition, in our study, in the group treated with the extract, although no statistically significant difference was observed, the levels remained close to those of the control group, suggesting a possible effect of blackberry in maintaining these parameters within the physiological range.

On the other hand, in kidney, TSH levels were decreased and the treatment with extract was able to partially reverse this result, which is in accordance with Cardoso et al., (2021), that demonstrated the effects of resveratrol in prevent this decrease in serum of animals with hypothyroidism.

The effect of reactive species is neutralized by antioxidant enzymes, which play a crucial role in the direct removal of free radicals (pro-oxidants), offering essential protection to biological sites. However, in patients with hypothyroidism, data on the activity of these enzymes is contradictory. Among the most effective antioxidant enzymes are SOD and CAT. The animals in the hypothyroid group

showed a significant decrease in the activity of the SOD and CAT the whole blood and, interestingly, the treatment with blackberry extract reversed this decrease in CAT activity, although for SOD this effect was not observed. This effect was in accordance with other studies that also showed decreased SOD and CAT activities in hypothyroidism (BALDISSARELI et al., 2016; BAGHCHEGHI et al., 2022). These findings can suggest that blackberry is able to modulate CAT activity, providing protection against oxidative damage observed in the hypothyroidism, especially with regard to high levels of hydrogen peroxide.

Fruits stand out as significant sources of bioactive compounds, capable of slowing down or inhibiting the chain reactions triggered by free radicals. This antioxidant property has led to an increase in demand for fruit on the national and international markets, driven by scientific evidence that reinforces the extra-nutritional benefits of these foods. In addition to providing basic nutrients, the biologically active substances present in fruit exhibit cardioprotective properties and could acts in the prevention or as therapeutic agents in cardiovascular diseases that constitute serious public health problems (PAZ et al., 2015). From a phytochemical point of view, for red fruits this potential is due to the high content of anthocyanins and other phenolic substances present in these fruits (ZHANG et al., 2019). Complementing this perspective, epidemiological studies indicate that diets rich in plant-based foods, including fruit and vegetables, contribute significantly to reducing the risk of chronic non-communicable diseases. These diseases include conditions such as cardiovascular disease, cancer, metabolic disorders, neurodegenerative and inflammatory diseases (ALEIXO et al., 2022).

Taken together, these results indicate that blackberry extract has the potential to act as an adjuvant treatment in the control of hypothyroidism, offering promising

benefits for human health. An important finding in this study was that the animals in the hypothyroid group showed a significant increase in total cholesterol levels, which was reversed by treatment with cainguá blackberry extract. These results are in line with studies suggesting that blackberry extract may have beneficial effects on various aspects of metabolic health. Parallel to this, its use has been shown to be effective in reversing some alterations, as well as having antioxidant properties capable of attenuating oxidative stress related to thyroid dysfunction. These effects may help to improve the metabolic profile and, consequently, the quality of life of individuals affected by the disease. Despite the encouraging results, more clinical studies are needed to validate its efficacy, safety and elucidate the mechanisms of action, as well as defining the appropriate therapeutic doses for application in humans.

Disclosure statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Data availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author, [author initials], upon reasonable request.

REFERENCES

- Abdulhadi MH, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI. Beneficial effects of levothyroxine replacement therapy on leptin adiponectin ratio in patients with idiopathic primary hypothyroidism. **J Pak Med Assoc** 71:S17–S21, 2021.
- Abdul-Hadi MH, Hussian NR, Rasheed HA, Al-Kuraishy HM, AlGareeb AI (2020) Subclinical hypothyroidism and erectile dysfunction: the potential nexus. **Urol Sci** 31:56, 2020.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. In: Packer, L. (Ed.). **Methods in Enzymology**, 105, 121–126. San Diego: Academic Press.
- B. Biondi, L. Bartalena, L. Chiovato et al. “Recommendations for treatment of hypothyroidism with levothyroxine and levotriiodothyronine: a 2016 position statement of the Italian Society of Endocrinology and the Italian Thyroid Association”. **J. Endocrinol. Investig.** 39, 1465–1474, 2016.
- Baghcheghi, Y.; Khordad, E.; Hosseini, M.; Ebrahimzadeh-Bideskan, A.; Sefidgar Tehrani, M.; Mansouritorghabeh, F.; Alipour, F. Effects of rosiglitazone and vitamin E on testicular tissue and sperm parameters in propylthiouracil-induced hypothyroidism in rats. **Comparative Clinical Pathology**, v. 31, n. 3, p. 547–555, 2022.
- Cardoso, M. A., et al. (2021). A trial for improving thyroid gland dysfunction in rats by using a marine organism extract. **Brazilian Journal of Biology**, 81(3), 429–434.
- Chaker, L., Bianco, A. C., Jonklaas, J., & Peeters, R. P. (2017). Hypothyroidism. **The Lancet**, 390(10101), 1550–1562.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 82(1), 70–77.
- Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S., & Taylor, P. (1996). As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman (9ª ed.). Rio de Janeiro: **McGraw-Hill**.
- Hameed et al. Comparative Study between a Combination of Plants Extracts and Drugs on Thyroid Hormones and Lipid Profile in Experimental Animals. **International Journal of special education** Vol.37, No.3, 2022.
- Iglesias, P., Bajo, M. A., Selgas, R., & Díez, J. J. (2017). Thyroid dysfunction and kidney disease: an update. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, 18(1), 131–144.
- Imad, Shahad & Alwakeel, Rand & al shahwany, Ayyad. Comparative Study between a Combination of Plants Extracts and Drugs on Thyroid Hormones and Lipid Profile in Experimental Animals. **International Journal of Special Education** 2022-7889, 2022.
- Libby, P. Mecanismos inflamatórios: a base molecular da inflamação e da doença. **Nutrition Reviews** 65 (12 Pt 2):S140–S6
- Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. **Am J Clin Nutr** 2003; 78: 3-6, 2007.

Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, 247(10), 3170–3175.

Nunes MEM, Müller TE, Murussi C, do Amaral AMB, Gomes JLC, Marins AT, Leitemperger J, Rodrigues CCR, Fiuza TL, Costa MD, Severo ES, Rosemberg DB, Loro VL. Oxidative effects of the acute exposure to a pesticide mixture of cypermethrin and chlorpyrifos on carp and zebrafish - A comparative study. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**. Apr;206-207:48-53. doi: 10.1016/j.cbpc.2018.03.002. Epub 2018 Mar 16. PMID: 29551388, 2018.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. **Journal of Lipid Research**. 19 (8), 1053–1057, 1978

Paz, M., Gúllon, P., Barroso, M. F., Carvalho, A. P., Domingues, V. F., Gomes, A. M., Becker, H., Longhinotti, E., & Delerue-Matos, C. (2015). Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, 172, 462–468.

Piantanida, E., Ippolito, S., Gallo, D., Masiello, E., Premoli, P., Cusini, C., Rosetti, S., Sabatino, J., Segato, S., Trimarchi, F., Bartalena, L., & Tanda, M. L. (2020). The interplay between thyroid and liver: implications for clinical practice. **Journal of Endocrinological Investigation**, 43(7), 885–899.

Resende RS, Rodrigues FÁ, Cavatte PC, Martins SC, Moreira WR, Chaves AR, Damatta FM. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected by *Colletotrichum sublineolum*. **Phytopathology**. Sep;102(9):892-8. doi: 10.1094/PHTO-01-12-0014-R. PMID: 22671024, 2012.

Roe, J. H., & Kuether, C. A. (1943). The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. **Journal of Biological Chemistry**, 147(2), 399–407.

Santos, P. P., Oliveira, T. T., Nagem, T. J., Pinto, A. S., & Oliveira, A. A. (2011). Polyphenols from *Morus nigra* (black mulberry) and their antioxidant and anti-inflammatory properties. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 21(1), 123–129.

Silva, Deyvison Guilherme Martins Santana; Rodrigues, Jonata Henrique de; Bernardo, Thyago de Oliveira; Pedroza, Elenilson Maximino; Lagranha, Anderson Apolonio da Silva; Jacques, Cláudia. Efeitos da restrição proteica materna sobre o estresse oxidativo no hipotálamo de ratos de 60 dias de idade. **Revista de Nutrição**, v. 36, p. 1-13, 2023.

Sinha, R. A., Singh, B. K., & Yen, P. M. (2018). Direct effects of thyroid hormones on hepatic lipid metabolism. **Nat Rev Endocrinol**, 14(5), 259-269. doi: 10.1038/nrendo.2018.10. Epub 2018 Feb 23. PMID: 29472712; PMCID: PMC6013028.

Skrovankova, Sona et al. "Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries." *International journal of molecular sciences* vol. 16,10 24673-706. 16 Oct. 2015, doi:10.3390/ijms161024673

Sucupira, N. R.; Silva, A. B.; Pereira, G.; Costa, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–269, 2012.

Ward, L. S. (2011). Levothyroxine and the problem of interchangeability of drugs with narrow therapeutic index. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 55(7), 429–434.

Zia-ul-haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H. Z., & Moga, M. (2014). *Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health related uses. **Molecules**, 19(8), 10998–11029.

TABLES

Table 1: Serum T3 and T4 levels and final body weight

	Control	Hypothyroidism	Hypothyroidism + Blackberry
T3 (ng/ml)	0.5100 ± 0.06940	0.1000 ± 0.000 ***	0.1000 ± 0.000 ***
T4 (mcg/dL)	4.075 ± 0.1377	0.4000 ± 0.1000****	1.000 ± 0.000****#
Final Body Weight (g)	422.4 ± 16.88	324.3 ± 9.088 ****	321.0 ± 5.916****

Table 1. Effect of treatment with cainguá blackberry extract (150mg/kg) on levels of the hormones T3 (triiodothyronine) and T4 (thyroxine) in the blood of animals with hypothyroidism and on final weight. Values represented as mean ± S.E.M (n=4). ***P<0.001, ****P<0.0001 when compared to the control group. #P<0.05 when compared to the hypothyroid group.

FIGURES

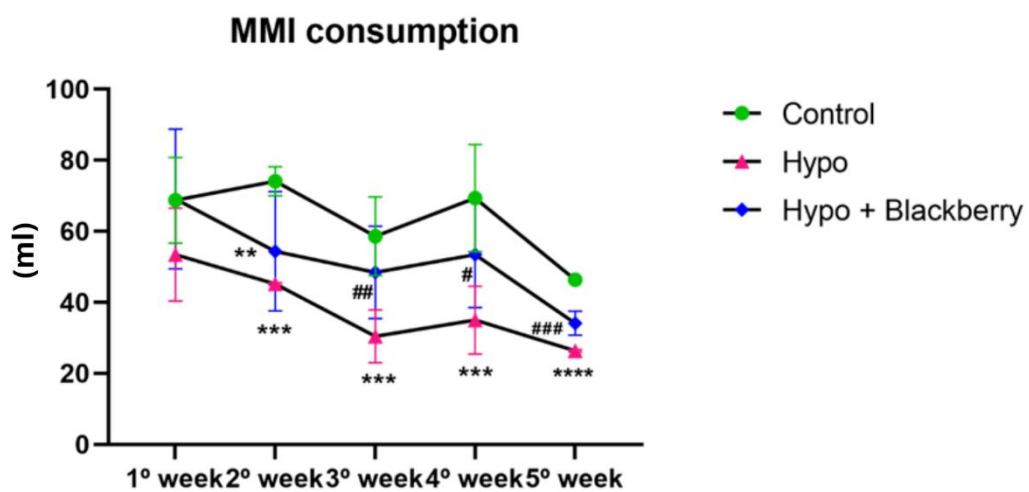


Figure 1: Consumption of methimazole during the five weeks of the experiment.

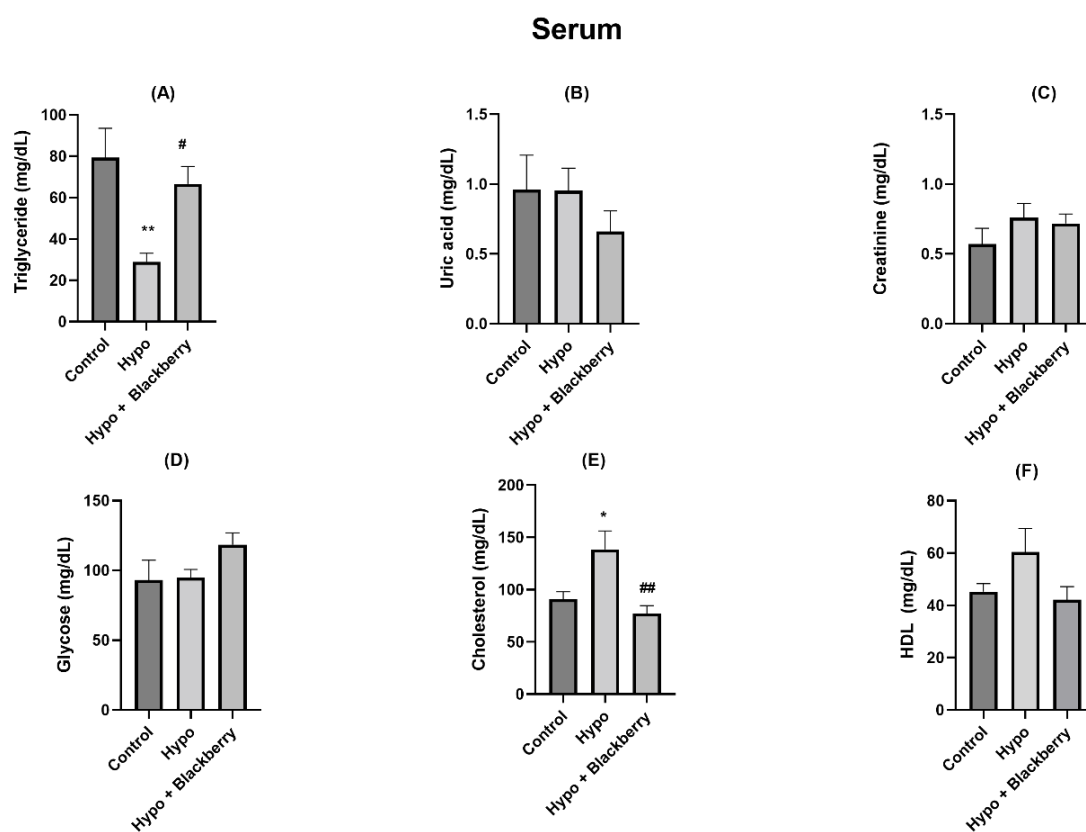


Figure 2. Biochemical parameters in serum.

Liver

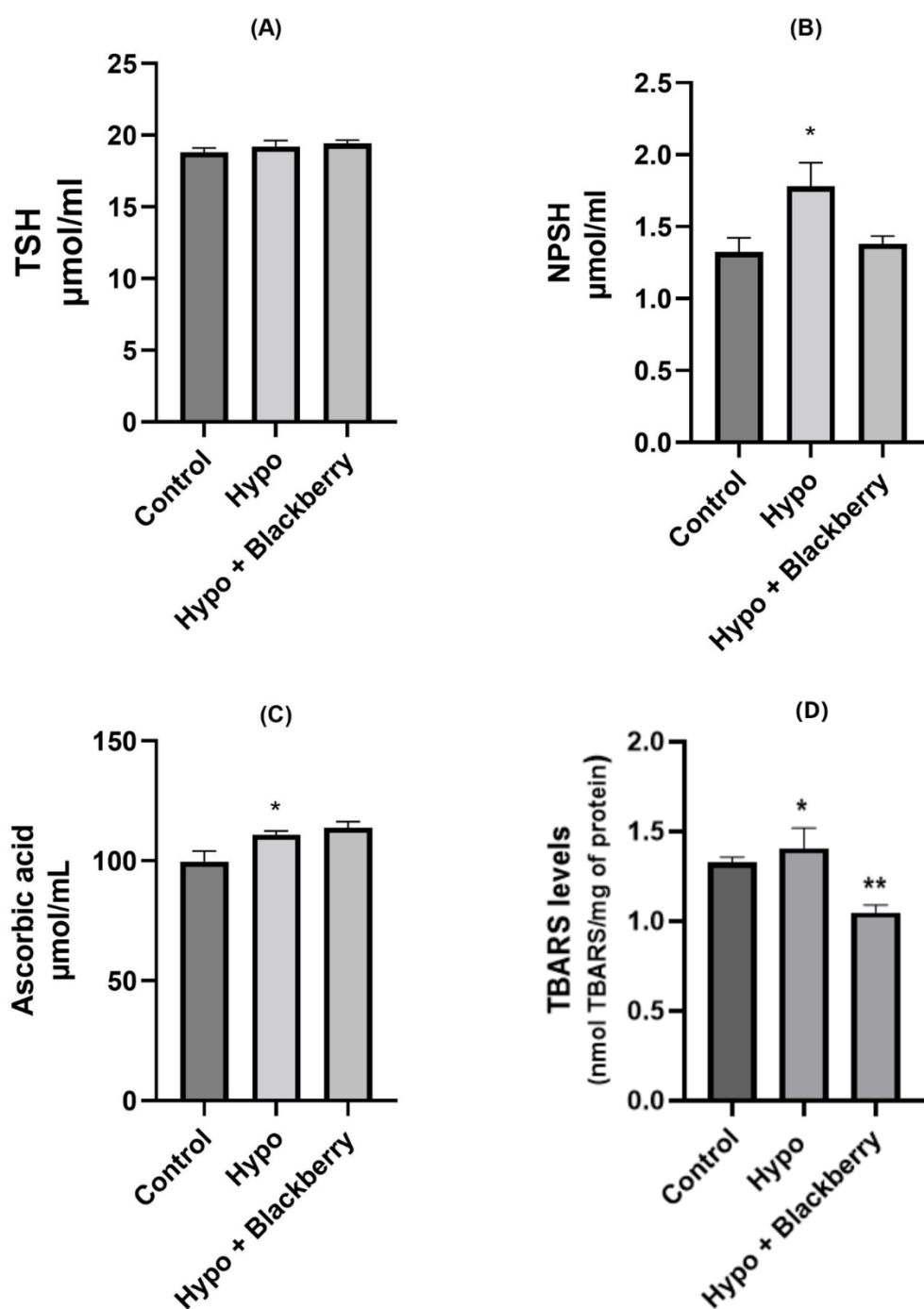


Figure 3. Levels of protein thiols (A) and non-protein thiols (B), ascorbic acid (C) and thiobarbituric acid reactive substances (D) in the liver.

Kidney

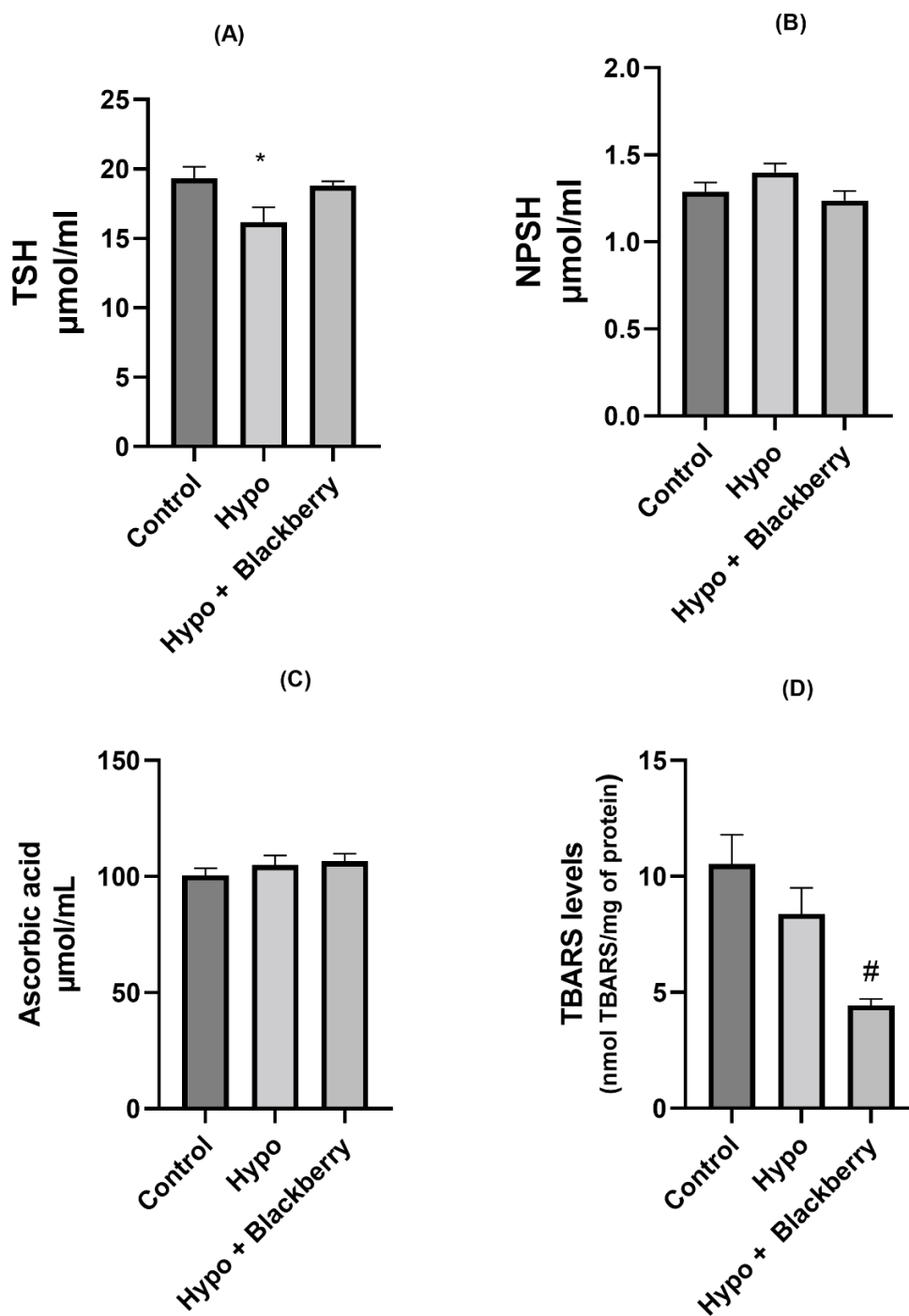


Figure 4. Levels of protein (A) and non-protein (B) thiols, ascorbic acid (C) and thiobarbituric acid reactive substances in kidney.

Erythrocytes

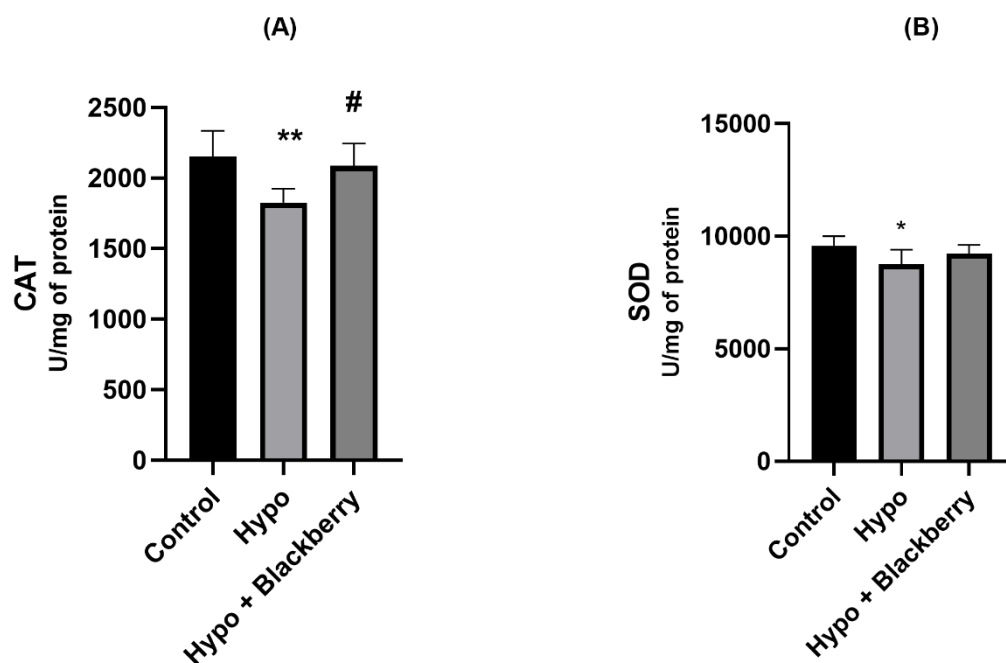


Figure 5. Activity of the enzymes catalase (A) and superoxide dismutase (B) in erythrocytes.

FIGURE CAPTIONS

Figure 1. Consumption of methimazole during the five weeks of the experiment, values represented mean $\pm$ S.E.M. (n=8) (*P<0.05), (**P<0.01), (***P<0.001), (****P<0.0001), when compared to the control group (##P<0.01), (####P<0.0001) when compared to the hypothyroid group.

Figure 2. Effect of treatment with cainguá blackberry extract (150mg/kg) on the following biochemical parameters: triglycerides (A), uric acid (B), creatinine (C), glucose (D) total cholesterol (E) and HDL (F) in the serum of animals with hypothyroidism. Values represented as mean $\pm$ S.E.M (n=8). **P<0.01, *P<0.05 when compared to the control group. ##P<0.01 when compared to the hypothyroid group.

Figure 3. Effect of treatment with cainguá blackberry extract (150mg/kg) on levels of protein thiols (A) and non-protein thiols (B), levels of ascorbic acid (C) and thiobarbituric acid reactive substances (D) in the liver of animals with hypothyroidism. Values represented as mean $\pm$ S.E.M (n=8). *P<0.05 when compared to the control group.

Figure 4. Effect of treatment with cainguá blackberry extract (150mg/kg) on levels of protein (A) and non-protein (B) thiols, levels of ascorbic acid (C) and thiobarbituric acid reactive substances in the kidneys of animals with hypothyroidism. Values represented as mean $\pm$ S.E.M (n=8). *P<0.05 when compared to the control group. #P<0.05 when compared to the hypothyroid group.

Figure 5. Effect of treatment with cainguá blackberry extract (150mg/kg) on the activity of the antioxidant enzymes catalase (A) and superoxide dismutase (B) in

erythrocytes from animals with hypothyroidism. Values represented as mean $\pm$ S.E.M (n=8). **P<0.01, *P<0.05 when compared to the control group. #P<0.05 when compared to the hypothyroid group.

5 DISCUSSÃO

O estudo do hipotireoidismo é essencial para entender seus mecanismos e impacto na saúde, além de buscar novas terapias. Embora a reposição hormonal seja o tratamento indicado, investiga-se o uso de compostos naturais, como o extrato de amora, na modulação da função tireoidiana.

Neste estudo, o hipotireoidismo foi induzido experimentalmente com metimazol, e sua confirmação ocorreu pela medição dos hormônios T3 e T4 no soro dos animais. O extrato de amora cainguá (150 mg/kg) não alterou os níveis de T3, mas foi hábil em restaurar os níveis de T4. É possível sugerir que o efeito seja explicado pelo fato de que o T4 é o principal hormônio secretado pela tireoide, enquanto o T3 é majoritariamente produzido a partir de uma conversão de T4 na periferia, podendo permanecer sem alterações por um maior período de tempo, mesmo diante de alterações na produção tireoidiana de T4.

Em relação ao consumo de MMI, observou-se que, na segunda semana, houve redução no grupo hipotireoidismo em comparação com o controle. A partir da terceira semana, com o tratamento com extrato de amora-preta, essa redução foi revertida no grupo hipotireoidismo + extrato, tendência que se manteve até a quarta semana. Na quinta semana, o grupo hipotireoidismo continuou com redução no consumo de MMI, enquanto o grupo tratado com extrato apresentou aumento significativo, mas não atingiu os níveis do grupo controle, mostrando apenas reversão parcial.

O consumo reduzido de água pelos ratos tratados com Metimazol pode ser atribuído à desregulação do apetite e sede, causada pela deficiência dos hormônios tireoidianos. Essa deficiência afeta o centro de controle da sede no cérebro, diminuindo a sensação de sede e resultando em menor ingestão de água, devido ao comprometimento do metabolismo e da regulação de líquidos pelo hipotireoidismo induzido (MCANINCH et al., 2014).

As análises bioquímicas mostraram alterações significativas em alguns parâmetros. Os animais do grupo hipotireoidismo apresentaram uma redução expressiva nos níveis de triglicerídeos, efeito que foi revertido pelo tratamento com o extrato de amora cainguá. Embora existam poucas pesquisas sobre os efeitos desse extrato nos parâmetros bioquímicos, especialmente em relação aos triglicerídeos no contexto do hipotireoidismo, alguns estudos já investigaram a influência de extratos vegetais sobre os perfis lipídico e hormonal.

Um estudo com antocianinas demonstrou atividades antiaterogênicas e antiplaquetárias em uma população com síndrome metabólica. Após quatro semanas de consumo de suplementos de antocianina por pacientes com síndrome metabólica, observou-se uma redução significativa nos níveis de triglicerídeos (ABOONABI A et al., 2020).

Por outra perspectiva, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de ácido úrico, creatinina, glicose e HDL entre os grupos experimentais. Os animais com hipotireoidismo apresentaram aumento no colesterol total, revertido com o tratamento com extrato de amora cainguá. Estudo de Marques e Teixeira (2008) mostrou que o extrato aquoso de *Morus nigra* L. reduziu significativamente os níveis de colesterol. Além disso, os mirtilos, com suas propriedades antioxidantes, têm sido destacados pelo potencial de reduzir o risco de doenças crônicas (MA et al., 2018; DEBOM et al., 2016).

A avaliação dos parâmetros oxidativos revelou alterações nos níveis de tióis proteicos e não proteicos, ácido ascórbico e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos rins dos animais. Foi observada uma redução significativa nos níveis de TSH no grupo com hipotireoidismo em comparação ao grupo controle, sem reversão pelo tratamento. Além disso, houve um aumento significativo nos níveis de NPSH e ácido ascórbico no grupo com hipotireoidismo em relação ao grupo controle, mas o tratamento com extrato de amora cainguá não conseguiu reverter essas mudanças.

Além disso, o tratamento com extrato de amora reverteu o aumento dos níveis de TBARS no fígado, evidenciando seu potencial antioxidante. Esse achado é consistente com estudos anteriores que relacionam a redução da peroxidação lipídica ao uso de extratos de amora-preta (Król et al., 2016). Nos rins, não houve diferença significativa nos níveis de TBARS em animais com hipotireoidismo, sugerindo maior resistência renal a danos oxidativos. No entanto, a diminuição

desses níveis nos animais tratados reforça a ação protetora do extrato contra o estresse oxidativo associado ao hipotireoidismo.

Os níveis de tióis proteicos e não proteicos, bem como de ácido ascórbico no fígado dos animais com hipotireoidismo apresentaram um aumento substancial nos níveis de NPSH e ácido ascórbico, o que pode ser explicado pela tentativa do sistema de defesa do organismo em manter esses níveis elevados para combater danos oxidativos. No grupo tratado com o extrato, embora não tenha havido diferença significativa, os níveis de NPSH e ácido ascórbico foram semelhantes aos do grupo controle, o que sugere que a amora ajuda a manter esses parâmetros dentro dos valores fisiológicos, como indicado por outros estudos (SILVA et al., 2023). Além disso, o tratamento com extrato de amora cainguá não causou alterações significativas nos níveis de TSH.

Os animais do grupo hipotireoidismo também mostraram uma redução significativa na atividade da enzima catalase, que foi revertida pelo tratamento com extrato de amora cainguá. Esse efeito é consistente com outros estudos que observaram a diminuição da atividade da CAT em casos de hipotireoidismo (BAGHCHEGHI et al., 2022).

Em relação à enzima superóxido dismutase (SOD), houve uma redução significativa na atividade dessa enzima no grupo com hipotireoidismo, mas o tratamento com o extrato de amora não causou alterações significativas nesse parâmetro. O aumento da atividade da CAT, acompanhado pela redução da atividade da SOD, pode refletir uma adaptação do sistema antioxidante a um ambiente com maior produção de peróxido de hidrogênio, como observado em outros estudos, como o de Resende et al., (2012) com plantas de algodão.

As frutas são fontes importantes de compostos bioativos que ajudam a retardar ou inibir as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres. Essa atividade antioxidante tem aumentado a demanda por frutas nos mercados global e nacional, sustentada por evidências científicas que destacam seus benefícios além da nutrição. Além de fornecer nutrientes essenciais, os compostos bioativos das frutas possuem propriedades cardioprotetoras e estão associados à prevenção de doenças que representam sérios problemas de saúde pública (SUCUPIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2015). Estudos epidemiológicos mostram que dietas ricas em alimentos de origem vegetal, como frutas e vegetais, ajudam a reduzir significativamente o risco de doenças crônicas não transmissíveis, como doenças

cardiovasculares, câncer, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e inflamatórias (CARRATU et al., 2005).

Dessa forma, os resultados indicam que o extrato de amora apresenta potencial benéfico no controle do hipotireoidismo, influenciando parâmetros como consumo hídrico, peso corporal e níveis hormonais. O tratamento reverteu a redução do consumo hídrico e dos níveis do hormônio T4 e normalizou alterações bioquímicas, como a queda dos triglicerídeos e o aumento do colesterol total. Além disso, de maneira importante, melhorou parâmetros oxidativos no fígado e rim, restaurando os níveis de TBARS e a atividade da enzima CAT, o que o torna o extrato um importante e promissor adjuvante no tratamento do hipotireoidismo.

Referências Bibliográficas

- Abdel-Wahhab et al. Role of ashwagandha methanolic extract in the regulation of thyroid profile in hypothyroidism modeled rats. **Molecular Biology Reports**, 2019.
- Abdulhadi MH, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI Beneficial effects of levothyroxine replacement therapy on leptin adiponectin ratio in patients with idiopathic primary hypothyroidism. **J Pak Med Assoc** 71:S17–S21, 2021.
- Abdul-Hadi MH, Hussian NR, Rasheed HA, Al-Kuraishy HM, AlGareeb AI Subclinical hypothyroidism and erectile dysfunction: the potential nexus. **Urol Sci** 31:56, 2020.
- Aboonabi A, Meyer RR, Gaiz A, Singh I. Anthocyanins in berries exhibited anti-atherogenicity and antiplatelet activities in a metabolic syndrome population. **Nutr Res**. Apr;76:82-93. doi: 10.1016/j.nutres.2020.02.011. Epub 2020 Feb 27. PMID: 32217379, 2020.
- Aburto N, Abudou M, Candeias V, Wu T. Effect and safety of salt iodization to prevent iodine deficiency disorders: a systematic review with meta-analyses. WHO e n Library of Evidence for Nutrition Actions (eLENA). Geneva: **World Health Organization** (in press), 2014.
- Aleixo, M. G. B. et al. Controle e redução de doenças crônicas não transmissíveis através da dieta à base de plantas: uma revisão abrangente. **Alimentos: ciência, tecnologia e meio ambiente**, v. 3, n. 2, p. 1–15, 2022.
- Ali AA, Sultan PSS. The effects of hyperthyroidism on lipid peroxidation, erythrocyte glutathione and glutathione peroxidase. **J Med Biochem** 30:11-4, 2011.
- Al-Kuraishy HM, Al-Bdulhadi MH, Al-Gareeb AI. Neuropeptide Y-Agouti related peptide ratio (NAR) in patients with idiopathic primary hypothyroidism: Nudge and Risk. **J Pak Med Assoc**. Dec;71(Suppl 8)(12):S27-S31. PMID: 35130213, 2021.
- Al-Naimi MS, Hussien NR, Rasheed HA, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI. Levothyroxine improves Paraoxonase (PON-1) serum levels in patients with primary hypothyroidism: case–control study. **J Adv Pharm Technol Res** 9:113, 2018.
- Al-Noory AS, Amreen AN, Hymoor S. Antihyperlipidemic effects of ginger extracts in alloxan-induced diabetes and propylthiouracil-induced hypothyroidism in (rats). **Pharmacognosy Res**. Jul;5(3):157-61. doi: 10.4103/0974-8490.112419. PMID: 23901210; PMCID: PMC3719255, 2013.
- American Thyroid Association. *Thyroid Disease and Health*. **American Thyroid Association**, n.d. Acesso em: 1 Nov. 2024. <https://www.thyroid.org/>.
- Antoniades, C.; Antonopoulos, A. S.; Bendall, J. K.; Channon, K. M., Targeting redox signaling in the vascular wall: from basic science to clinical practice. **Curr Pharm Des** 15 (3), 329-42, 2009.
- Antunes L, Peres N. Produção de morango no Brasil e Sul América. **Int J Fruit Sci** 13:156–161, 2013.

Antunes, L. E. C.; Pereira, I. P.; Picoletto, L.; Vignolo, G. K.; Gonçalves, M. Produção de amoreira-preta no Brasil. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 100-111, mar. 2014.

Aseervatham, G.S.B.; Sivasudha, T.; Jeyadevi, R.; Arul Ananth, D. Environmental Factors and Unhealthy Lifestyle Influence Oxidative Stress in Humans—An Overview. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 4356–4369, 2013.

Ayadi M, Gasbi A, Meddeb K, Mokrani A, Yahiaoui Y, Letaief F, Charaiet N, Rais H, Mezlini A. Primary leiomyosarcoma of thyroid gland: the youngest case. **Pan Afr Med J.**;26:113. PMID: 28533836 DOI: 10.11604/pamj.2017.26.113.11472, 2017.

B. Biondi, L. Bartalena, L. Chiovato et al. “Recommendations for treatment of hypothyroidism with levothyroxine and levotriiodothyronine: a 2016 position statement of the Italian Society of Endocrinology and the Italian Thyroid Association”. **J. Endocrinol. Investig.** 39, 1465–1474, 2016.

B. Biondi, L. Wartofsky, Treatment with thyroid hormone. **Endocr. Rev.** 35, 433–512, 2014.

B. C. Strik, J. R. Clark, C. E. Finn, M. P. Banados, ~ Worldwide Blackberry Production, **J. Am. Soc. Hortic.**, 17, 2, 2007.

Bagatini MD, dos Jaques JAS, de Oliveira CS, de Oliveira GA, Pillat MM, Manica A et al. Oxidative stress: noxious but also vital. In: Atukeren P (ed) Novel prospects in oxidative and nitrosative stress. **InTech**, London, 2018.

Baldissareli, J. et al. Quercetin changes purinergic enzyme activities and oxidative profile in platelets of rats with hypothyroidism. **Biomed Pharmacot.** v. 84, p.1849-1857, 2016.

Biondi B, Cooper DS. Thyroid hormone therapy for hypothyroidism. **Endocrine** 66:18-26, 2019.

Biondi B, Klein I. Hypothyroidism as a risk factor for cardiovascular disease. **Endocrine.** 24:1-13, 2004.

Bortoluzzi, TB, Yasmine Carreira VA, Oliveira, AC, Souza, ICA, Piatto, VB & Molina, FD. Prevalência de hipotireoidismo em pacientes com queixas de distúrbios respiratórios relacionados ao sono. **Arquivos de Ciências da Saúde**, 23(2), 30-35, 2016.

Bougma K, Aboud FE, Harding KB, Marquis GS. Iodine and mental development of children 5 years old and under: a systematic review and meta-analysis. **Nutrients** 5: 1384–416, 2013.

Brotfain E, Koyfman L, Frenkel A, Smolikov A, Zlotnik A, Klein M. Iodine-induced hyperthyroidism-an old clinical entity that is still relevant to daily ICU practice: a case report. **Case Rep Endocrinol.**792745. PMID: 23653865 DOI: 10.1155/2013/792745, 2013

Burch, H. B. Thyroid hormone. **Endocrinology and metabolism clinics of north america**, v. 38, n. 1, p. 23-46, 2009.

Burek, C.L.; Talor, M.V. Environmental Triggers of Autoimmune Thyroiditis. **J Autoimmun.**33, 183–189, 2009.

Canada, A. a. A.-F. (2012). "Agriculture and Agri-Food Canada." **Retrieved** 30 mai. 2012.

Cappola, Anne R et al. "Thyroid status, cardiovascular risk, and mortality in older adults." **JAMA** vol. 295,9, 2006.

Carlé A, Pedersen IB, Knudsen N, et al. Moderate alcohol consumption may protect against overt autoimmune hypothyroidism: a population-based case-control study. **Eur J Endocrinol**, 2012.

Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. **Lancet**. 390(10101):1550-62, 2017.

Chakera AJ, Pearce SH, Vaidya B. Treatment for primary hypothyroidism: current approaches and future possibilities. **Drug Des Devel Ther**. 2012;6:1-11. doi: 10.2147/DDDT.S12894. Epub Dec 22. PMID: 22291465; PMCID: PMC3267517, 2011.

Chaves V, Soares MS, Spohr L, Teixeira L, Vieira A, Constantino L, Dal Pizzol F, Lencina C et al. Extrato de amora melhora disfunções comportamentais e neuroquímicas em um modelo de mania em ratos induzidos por cetamina. **Neurosci Lett** 714:134566, 2020.

Chiovato, L.; Magri, F.; Carlé, A. Hypothyroidism in Context: Where We've Been and Where We're Going. **Adv. Ther**. 36, 47–58, 2019.

Choudhury, S. et al. Experimentally induced hypo- and hyperthyroidism influence on the antioxidant defense system in adult rat testis. **Andrologia**, v. 35, n. 3, p. 131–140, 2003.

Clark, J. R., Finn, C. E. 2008. New trends in blackberry breeding. **Acta Horticulturae** 777:41-47, 2008.

Cordeiro C A M, TECNOLOGIA DE ALIMENTOS Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos- Volume 1. **Editora Científica Digital**. Guarujá SP, 2020.

Dasgupta A, Klein K Methods for Measuring Oxidative Stress in the Laboratory. In Antioxidants in Food, **Vitamins and Supplements**. 19–40, 2014.

Debom G, Gazal M, Soares MSP, Couto CAT, Mattos B, Lencina C, Kaster MP, Ghisleni GC, Tavares R, Braganhol E, Chaves VC, Reginatto FH, Stefanello F, Spanevello RM. Efeitos preventivos do mirtilo extrato sobre disfunções comportamentais e bioquímicas em ratos submetidos a um modelo de comportamento maníaco induzido por cetamina. **Cérebro Res Bull** 127:260–269, 2016.

Devika PT, Prince PSM. Epigallocatechin-gallate (EGCG) prevents mitochondrial damage in isoproterenol-induced cardiac toxicity in albino Wistar rats: a transmission electron microscopic and in vitro study. **Pharmacol Res** 57(5):351–357, 2008.

Dos Anjos Cordeiro JM, Santos LC, de Oliveira LS, Santos BR, Santos EO, Barbosa EM, de Macêdo IO, de Freitas GJC, Santos DA, de Lavor MSL, Silva JF. Maternal hypothyroidism causes oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in the

maternal-fetal interface of rats. **Free Radic Biol Med**. Epub Aug 26. PMID: 36038036. 2022.

Fachinello, J. C.; Pasa, M. S.; Schmitz, J. D.; Betemps, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista brasileira de fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 109-120, out. 2011.

Fan H, Liu Z, Zhang X, Wu S, Shi T, Zhang P, Xu Y, Chen X, Zhang T. Thyroid stimulating hormone levels are associated with genetically predicted nonalcoholic fatty liver disease. **J Clin Endocrinol Metab** 107:2522–2529, 2022.

Ferreira, et al. *Prevalence of thyroid dysfunctions in patients attended at the Clinical Laboratory of the Military Police Hospital of the Goiás State in the period from 2015 to 2016*. **Brazilian Journal of Clinical Analyses**, 2018

Fonseca, A. S.; Vasconcelos, S. M. Distúrbios fisiológicos relacionados à glândula tireoide: uma revisão literária. **Researchgate**, 2019.

Gasparin. Hipotireoidismo atinge mulheres que homens, Disponível em: <https://hospitalsantaclara.com.br/hipotireoidismo-atinge-mais-mulheres-quehomens/>. Acesso em: 31/09/2024. 2018.

Giannakou M, Saltiki K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, Stavrianos C, Kyprianou M, Psaltopoulou T, Karatzi K. The effect of obesity and dietary habits on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis. **Endocr Connections**.;7(9):990–7, 2018.

Gordon DF, Sarapura VD, Samuels MH, Ridgway EC. Thyroidstimulating hormone: physiology and secretion. **Endocrinology**. Elsevier, pp 1362–1383, 2010.
Guyton, A. C.; Hall, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

Hall, Kevin D et al. "Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake." **Cell metabolism** vol. 30,1 (2019): 67-77.e3. doi:10.1016/j.cmet 05.008, 2019.

Halliwell, B.; Whiteman, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **Br J Pharmacol.**, v.142 (2), p. 231-55, 2004.

He J., Giusti M.M. Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.** 1:163–187. 2010.

Hines E. New nutritive substances: Beyond the ABCs. **Food Quality** 6: 39-43, 1999.

Huang PS, Wang CS, Yeh CT, Lin KH. Roles of thyroid hormone-associated microRNAs affecting oxidative stress in human hepatocellular carcinoma. **Int J Mol Sci** 20(20):5220, 2019.

Ihnatowicz P, Drywień M, Wątor P, Wojsiat J. The importance of nutritional factors and dietary management of Hashimoto's thyroiditis. **Ann Agric Environ Med** 27(2), 2020.

Imad, Shahad & Alwakeel, Rand & al shahwany, Ayyad. Comparative Study between a Combination of Plants Extracts and Drugs on Thyroid Hormones and Lipid **Profile in Experimental Animals**. 2022.

J. Jonklaas, A.C. Bianco, A.J. Bauer, American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement et al., Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the American thyroid association task force on thyroid hormone replacement. **Thyroid** 24, 1670–751. 2014

Junqueira, Luiz Carlos Uchôa. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

Kaklamanos I, Zaroska M, Flessas I, Zoulamoglou M, Katsoulas T, Birbas K, Troupis T, Mariolis-Sapsakos T. Surgical anatomy of double pyramidal lobe on total thyroidectomy: a rare case report. **Int J Surg Case Rep**, 2017.

Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., Lim S.M. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food Nutr. Res**. 2017.

Liu RH. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinaions of phytochemicals. **Am J Clin Nutr**, 2003.

Chiovato, L.; Magri, F.; Carlè, A. Hypothyroidism in context: where we've been and where we're going. **Advances in therapy**, v. 36, n. S2, p. 47–58, 1 set. 2019.

Ma L, Sun Z, Zeng Y, Luo M, Yang J. Mecanismo molecular e papel na saúde de ingredientes funcionais em mirtilo para doenças crônicas em seres humanos. **Int J Mol Sci** 19:2785, 2018.

Mahdavi M, Amouzegar A, Mehran L, Madreseh E, Tohidi M, Azizi F. Investigating the prevalence of primary thyroid dysfunction in obese and overweight individuals: Tehran thyroid study. **BMC Endocr Disorders**, 2021.

Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, Currò D. Thyroid hormones, oxidative stress, and inflammation. **Mediators of inflammation** 2016.

Manual MSD. Acesso em 19/out/24

<https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/dist%C3%BArbios-end%C3%B3crinos-e-metab%C3%B3licos/dist%C3%BArbios-da-tireoide/hipotireoidismo>

Marfella R, Ferraraccio F, Rizzo MR, et al. Innate immune activity in plaque of patients with untreated and L-thyroxine-treated subclinical hypothyroidism. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, vol. 96, no. 4, pp. 1015–1020.

Maroyi, A. Albizia Adianthifolia: Botany, Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Properties. **The Scientific World Journal**, v. p. 1-8, 2018.

Mattioli R, Francioso A, Mosca L, Silva P. Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. **Molecules**. Aug 21;25(17), 2020.

McAninch, Elizabeth A, and Antonio C Bianco. "Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism." **Annals of the New York Academy of Sciences** vol. 1311 77-87. doi:10.1111/nyas.12374, 2014.

Mendes, D.; Alves, C.; Silverio, N.; Batel Marques, F. Prevalence of Undiagnosed Hypothyroidism in Europe: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Eur. Thyroid J.** 8, 130–143, 2019.

Michaelsson, L. F. et al. Treating hypothyroidism with thyroxine/tri-iodothyronine combination therapy in denmark: following guidelines or following trends? **European thyroid journal**, v. 4, n. 3, p. 174–180, 2015.

Mohan M, Waghulde H, Kasture S. Effect of pomegranate juice on Angiotensin II-induced hypertension in diabetic Wistar rats. *Phytother Res.* 2010 Jun;24 Suppl 2:S196-203. doi: 10.1002/ptr.3090. Erratum in: **Phytother Res**, 2010.

Mottioli, L. et al. Antioxidantes, atividade física e estresse oxidativo em mulheres idosas. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 26, n. 4, p. 268–273, 2020.

Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. Medicinal prospects of antioxidants: a review. **Eur J Med Chem** 178:687–704, 2019.

Neve JM, Matos CM, Moutinho CG, Gomes RL, Teixeira T. Antioxidant activity and in vitro cytotoxicity of aqueous *Mentha x piperita* leaf extracts. **Rev Fac Ciênc Saúde**, 2009.

Nhlbi. Inflammation, cholesterol, lipoprotein(a), and 30-year cardiovascular outcomes in women. **National heart, lung, and blood institute**, 31 ago. 2024.

Nimse SB, Pal D. Radicais livres, antioxidantes naturais e seus mecanismos de reação. **RSC Adv.** 5:27986–28006. doi: 10.1039/C4RA13315C, 2015.

Office of Dietary Supplements (ODS), National Institutes of Health (NIH). Iodine - Consumer. Disponível em: <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/iodine-consumer.pdf>. Acesso em: 01/11/2024.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. **Journal of Lipid Research.** 1978.

Organização mundial da saúde (Oms). Iodine status worldwide: who global database on iodine deficiency. Geneva: World Health Organization, 2004. Disponível em: https://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/iodine_deficiency/iodine_status_worldwide/en/. Acesso em: 3 maio 2025.

Paredes-López O, Cervantes-Ceja ML, Vigna-Pérez M, Hernández-Pérez T. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life--a review. **Plant Foods Hum Nutr** 65(3): 299-308, 2010.

Patel SS, et al. Medicinal plants with acetylcholinesterase inhibitory activity. **Reviews in the Neurosciences**, v. 29, p. 491–529, 2018.

Peeters RP. "Subclinical hypothyroidism." **New England Journal of Medicine**, vol. 376, no. 26, pp. 2556–2565, 2017.

Penumala M, et al. Phytochemical profiling and in vitro screening for anticholinesterase, antioxidant, antiglucosidase and neuroprotective effect of three traditional medicinal plants for Alzheimer's Disease and Diabetes Mellitus dual therapy. **BMC Complement Altern Med**, v. 18, p. 1-13, 2018.

Ravarotto V, et al. "Oxidative stress – chronic kidney disease – cardiovascular disease: A vicious circle." **Life Sciences**, v. 210, p. 125-131, 2018.

Resch UG, et al. "Antioxidant status in thyroid dysfunction." **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 40, n. 11, p. 1132–1134, 2002.

Rodrigues BM, et al. "Corpo humano: diversos sistemas interligados." **Aprendendo Ciência**, 4(1):79-83, 2015.

Ross D, et al. "2016 American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis." **Thyroid**, v. 26, 2016.

Sajjadi-Jazi SM, Sharifi F, Varmaghani M, Meybodi HA, Farzadfar F, Larijani B. "Epidemiology of hyperthyroidism in Iran: a systematic review and meta-analysis." **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**. 17(2):345–55, 2018.

Sang-In Park et al. "Therapeutic Effects of Blue Honeysuckle on Lesions of Hyperthyroidism in Rats." **The American Journal of Chinese Medicine**, Vol. 44, No. 7, 1441–1456. World Scientific Publishing Company. 2016.

Santi A, Duarte MMMF, Moresco RN, Menezes C, Bagatini MD, Schetinger MRC, et al. Association between thyroid hormones, lipids and oxidative stress biomarkers in over hypothyroidism. **Clin Chem Lab Med**. 48:1635-9, 2010.

Santi A, et al. Effects of quercetin on oxidative stress biomarkers in methimazole-induced hypothyroid rats. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**.122(9):533-9, 2014.

Schomburg, L.; Köhrle, J.; Laurberg, P. Thyroid hormone synthesis and anti-thyroid drugs: a bioinorganic chemistry approach. **Journal of chemical sciences**, v. 118, n. 6, p. 619–625, 2012.

Shirzad N, Taghvaei M, Ferns GA, Qorbani M, Hemmatabadi M, Mobarra N. Serum Prooxidant-Antioxidant Balance and hs-CRP in Patients with Clinical and Subclinical Hypothyroidism. **Int J Prev Med**. Sep 20;13:120, 2022.

Sociedade Brasileira de Endocrinologia Metabologia. EBT 2020 – Press Releases: Adesão ao Tratamento do Hipotireoidismo. Acesso em 26 de outubro de 2024.

Disponível em: https://www.endocrino.org.br/noticias-de-departam/___trashed-7/

Sousa CMM, Silva HR, Vieira-Junior GM, Ayres MCC, Costa CLC, Araújo DS. Total phenols and antioxidant activity of five medicinal plants. **Quim Nova**. 30(2):351-5, 2007.

Spohr L, Soares MSP, Oliveira PS, de Mattos BS, Bona NP, Pedra NS, Teixeira FC, do Couto CAT, Chaves VC, Reginatto FH, Lisboa MT, Ribeiro AS, Lencina CL, Stefanello FM, Spanevello RM. Combinado ações do extrato de mirtilo e do lítio nas alterações neuroquímicas observadas em um modelo experimental de mania: explorando possíveis efeitos sinérgicos. **Metab Cérebro Dis**. 34:605–619, 2019.

Strik, B. C.; Clark, J. R.; Finn, C. E.; Bañados, M. P. Worldwide blackberry production. **Horttechnology**, v. 17, n. 2, p. 205–213, 2007.

Tavares L, Figueira I, Macedo D, McDougall G, Leitão M, Vieira H, Stewart D, Alves P, Ferreira RB, Santos CN. O efeito neuroprotetor dos polifenóis da amora (*Rubus* sp.) é potencializado após simulação da digestão gastrointestinal. **Química Alimentar**.131:1443–1452, 2012.

Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, Okosieme OE. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. **Nature Reviews Endocrinology**. 14(5):301–16, 2018.

Tomaz FDD, et al. Prevalence of Hypothyroidism Among Elderlies from Taubaté, SP. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. 20(3):235-240, 2016.

Tsikakos D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. **Analytical Biochemistry**. 524:13–30, 2017.

Unnikrishnan AG, Menon UV. Distúrbios da tireoide na Índia: uma perspectiva epidemiológica. **Revista Indiana de Endocrinologia e Metabolismo**. 15(Suppl2):78. Wolters Kluwer-Medknow Publications. 2011.

Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini V, Benfato MS, Kubota LT. Reactive oxygen and nitrogen species, antioxidants and markers of oxidative damage in human blood: main analytical methods for their determination. **Química Nova**. 30(5):1323-38, 2017.

Venditti, P. et al. Vitamin E management of oxidative damage-linked dysfunctions of hyperthyroid tissues. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 70, n. 17, p. 3125–3144, 2013.

Wartofsky, L.; Klubo-Gwiedzinska, J. Myxedema coma. **The thyroid and its diseases: a comprehensive guide for the clinician**, p. 281–292, 2019.

Weyemi, U. et al. Intracellular expression of reactive oxygen species-generating NADPH oxidase NOX4 in normal and cancer thyroid tissues. **Endocrine-related cancer**, v. 17, n. 1, p. 27–37, 2010.

Wiersinga, W.M. Clinical relevance of environmental factors in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease. **Endocrinology and metabolism**, v. 31, p. 213, 2016.

Willett, W.C. Diet and health: what should we eat? **Science**, v. 264, n. 5158, p. 532–7, 1994.

Willett, W.C. Diet, nutrition, and avoidable cancer. **Environmental health perspectives**, v. 103(Suppl. 8), p. 165-70, 1995.

Williams, G. Extrathyroidal expression of TSH receptor. **Annales d'endocrinologie**, v. 72, p. 68–73, 2011.

Wolfsheimer, K.J. Moléstias da tireoide. In: Bojhab, M.J. **Mecanismos na moléstia na cirurgia de pequenos animais**. 2 ed. Manole, São Paulo, SP, p. 675, 1996.

Yang, G. et al. Novel mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. **Journal of cardiovascular disease**, v. 1, 2010.

Yim CH. Update on the Management of Thyroid Disease during Pregnancy. **Endocrinol Metab (Seoul)**. 31:386-91, 2016.

Zamwar UM, Muneshwar KN. Epidemiology, Types, Causes, Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment of Hypothyroidism. **Curēus**. 30 set. 2023.

Zarkovic N. Roles and Functions of ROS and RNS in Cellular Physiology and Pathology. **Cells**. 2020

Zheng H, Zhao J, Zheng Y, Wu J, Liu Y, Peng J, Hong Z. Protective effects and mechanisms of total alkaloids of *Rubus alceaefolius Poir* on nonalcoholic fatty liver disease in rats. **Mol Med Rep**. 10:1758–64, 2014.

Zia-ul-haq, M.; Riaz, M.; De feo, V.; Jaafar, H. Z.; Moga, M. *Rubus fruticosus* L.: constituents, biological activities and health related uses. **Molecules**, v. 19, n. 8, p. 10998–11029, 2014.

Zimmermann MB, Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders. **Lancet Diabetes Endocrinol**. 3:286–295, 2015.



PARECER Nº 156/2023/CEUA/REITORIA
PROCESSO Nº 23110.012594/2020-10

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO RESVERATROL E DE EXTRATOS NATURAIS NOS SISTEMAS PURINÉRGICO E COLINÉRGICO EM SISTEMA NERVOSO CENTRAL E PERIFÉRICO DE RATOS COM HIPOTIREOIDISMO**”, registrada com o nº 23110.012594/2020-10, sob a responsabilidade de **Jucimara Baldissarelli** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	Início: 01/08/2020 Término: 01/08/2024 (prazo prorrogado por adendo)
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> Wistar
Nº de animais	190
Idade	60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central - UFPel

Código para cadastro nº **CEUA 12594-2020**

Priscila Marques Moura de Leon

Coordenadora da CEUA



Documento assinado eletronicamente por **PRISCILA MARQUES MOURA DE LEON, Professor do Magistério Superior**, em 22/08/2023, às 13:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2312417** e o código CRC **B7B12155**.

Referência: Processo nº 23110.012594/2020-10

SEI nº 2312417